

**ANNALES  
ACADEMIAE MEDICAE  
GEDANENSIS  
TOM XXXVIII  
2008  
SUPPLEMENT 3**



AKADEMIA MEDYCZNA W GDAŃSKU

**RENATA EWA ZAUCHA**

**CZYNNIKI RYZYKA WCZESNYCH I PÓŹNYCH POWIKŁAŃ  
PO TRANSPLANTACJI AUTOLOGICZNYCH  
KOMÓREK KRWIOTWÓRCZYCH  
U CHORYCH NA ZAAWANSOWANE NOWOTWORY**

*Risk factors for early and late complications following  
autologous hematopoietic cell  
transplantation in advanced malignancies*

Rozprawa habilitacyjna

Klinika Onkologii i Radioterapii Akademii Medycznej w Gdańsku

Kierownik: prof. dr hab. Jacek Jassem

GDAŃSK 2008

Wydano za zgodą  
Senackiej Komisji Wydawnictw Akademii Medycznej w Gdańsku

REDAKTOR NACZELNY  
PRESIDENT OF THE EDITORIAL BOARD  
prof. dr Marek Grzybiak

KOMITET REDAKCYJNY  
EDITORIAL BOARD  
Z-ca redaktora naczelnego – prof. dr Marek Latoszek  
sekretarz redakcji – dr Włodzimierz Kuta,  
prof. dr Andrzej Hellmann, prof. dr Józef Jordan, prof. AMG,  
mgr Józefa de Laval, prof. dr Jerzy Łukasiak,  
prof. dr Zbigniew Machaliński, prof. dr Stefan Raszeja

ADRES REDAKCJI  
ADDRESS OF EDITORIAL OFFICE  
Annales Academiae Medicae Gedanensis  
ul. Marii Skłodowskiej-Curie 3a,  
80-210 Gdańsk, Poland  
e-mail: [annales@amg.gda.pl](mailto:annales@amg.gda.pl)

Artykuły opublikowane w Annales AMG  
są zamieszczane w bazie EMBASE  
Articles published In Annales AMG are covered  
by the Excerpta Medica dabase (EMBASE)

PL ISSN 0303–4135

Akademia Medyczna w Gdańsku

## SPIS TREŚCI

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW.....	7
1. WSTĘP.....	9
1.1. Leczenie nowotworów litych z udziałem przeszczepiania komórek krwiotwórczych.....	9
1.2. Metody kondycjonowania.....	10
1.2.1. Napromienianie całego ciała (TBI).....	10
1.2.2. Wysokodawkowa chemioterapia.....	13
1.2.3. Terapia tandemowa.....	17
1.2.4. Napromienianie całego szpiku (TMI) w leczeniu tandemowym ...	18
1.2.5. Wpływ współistniejących chorób na wyniki leczenia.....	20
2. CEL PRACY.....	21
3. BADANA GRUPA CHORYCH.....	22
4. METODY.....	30
4.1. Mobilizacja i zbiórka obwodowych komórek macierzystych szpiku i źródło materiału przeszczepowego.....	30
4.2. Leczenie wspomagające.....	30
4.3. Ocena toksyczności zależnej od schematu leczenia (RRT).....	31
4.4. Ocena odpowiedzi na leczenie.....	33
4.5. Schematy kondycjonowania BuMeTT i BEAM u chorych na chłoniaki złośliwe.....	33
4.6. TMI w leczeniu tandemowym chorych na zaawansowane nowotwory lite z przerzutami do kości lub szpiku.....	34
4.6.1. Pierwsze leczenie mieloablacyjne z zastosowaniem chemioterapii.....	34
4.6.2. Drugie leczenie mieloablacyjne z udziałem TMI.....	34
4.6.3. Technika TMI.....	35
4.6.4. Dozymetria.....	37
4.6.5. Sposób obliczania dawki.....	38
4.6.6. Biologiczny równoważnik dawki (BED).....	39
4.6.7. Ocena objawów niepożądanych zależnych od schematu leczenia (RRT) i maksymalnej dawki tolerancji (MTD) TMI.....	39
4.7. Metody statystyczne.....	40
5. WYNIKI.....	42
5.1. Przyjęcie przeszczepu.....	42
5.1.1. Przyjęcie przeszczepu po kondycjonowaniu z zastosowaniem schematu BuMeTT i BEAM.....	42
5.1.2. Przyjęcie przeszczepu po kondycjonowaniu z udziałem TMI w leczeniu tandemowym.....	42
5.2. Toksyczność leczenia (RRT).....	43

5.2.1. RRT po kondycjonowaniu z udziałem schematu BuMeITTT i BEAM.....	43
5.2.2. RRT po kondycjonowaniu z udziałem TMI w leczeniu tandemowym.....	45
5.3. Biologiczny równoważnik dawki (BED) .....	52
5.4. Odpowiedź na leczenie.....	53
5.5. Wpływ HCT-CI na ryzyko zgonu .....	57
6. DYSKUSJA .....	61
6.1. Tolerancja i skuteczność kondycjonowania bez udziału TMI .....	61
6.2. Powikłania płucne .....	63
6.3. Tolerancja i skuteczność leczenia tandemowego z udziałem TMI .....	64
6.4. Powikłania ze strony układu krążenia.....	66
6.5. Zespół zatokowej niedrożności wątroby .....	66
6.6. Niewydolność nerek.....	68
6.7. Ryzyko MDS i nowotworów wtórnych .....	70
6.8. Inne powikłania.....	70
6.9. Przydatność wskaźnika HCT-CI w ocenie ryzyka śmiertelnych powikłań po autotransplantacji .....	72
7. WNIOSKI .....	74
8. STRESZCZENIE .....	75
9. SUMMARY .....	78
10. PIŚMIENNICTWO.....	81

## WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

- AaIPI – *age-adjusted international prognostic index* – międzynarodowy wskaźnik rokowniczy skorygowany dla wieku
- ARDS – *acute respiratory distress syndrome* – ostry zespół niewydolności oddechowej
- AutoHCT – *autologous hematopoietic cell transplantation* – przeszczepienie autologicznych komórek krwiotwórczych
- BED – *biologic equivalent dose* – biologiczny równoważnik dawki
- BOOP – *bronchiolitis obliterans with organizing pneumonia* – zarostowe zapalenie oskrzelików z zapaleniem płuc
- CI – *confidence interval* – przedział ufności
- CR – *complete remission* – całkowita remisja
- DAD – *diffuse alveolar damage* – rozlane uszkodzenie pęcherzyków płucnych
- DAH – *diffuse alveolar hemorrhage* – rozlany krwotok z pęcherzyków płucnych
- DLBCL – *diffuse large B-cell lymphoma* – chłoniak rozlany z komórek B
- EFS – *event-free survival* – przeżycie wolne od nawrotu
- FL – *follicular lymphoma* – chłoniak grudkowy
- GVL – *graft versus leukemia* – przeszczep przeciwko białaczce
- HBI – *half body irradiation* – napromienianie połowy ciała
- HCT – *hematopoietic cell transplantation* – przeszczepienie komórek krwiotwórczych
- HCT-CI – *hematopoietic cell transplantation – specific comorbidity index*, wskaźnik obciążających chorób towarzyszących u chorych po autoHCT
- HDC – *high-dose chemotherapy* – chemioterapia wysokodawkowa
- HSC – *hematopoietic stem cells* – komórki macierzyste krwi
- IF – *involved field* – obszar ograniczony (w przypadku radioterapii)
- IMRT – *intensity modulated radiotherapy* – napromienianie z modulacją intensywności wiązki
- IPI – *international prognostic index* – międzynarodowy wskaźnik rokowniczy
- MCL – *mantle cell lymphoma* – chłoniak z komórek płaszczka
- MDS – *myelodysplastic syndrome* – zespół mielodysplastyczny
- MOF – *multiorgan failure* – niewydolność wielonarządowa
- MTD – *maximum tolerated dose* – maksymalna dawka tolerancji
- MZL – *marginal zone lymphoma* – chłoniak strefy brzeżnej
- N – liczebność próby
- NHL – *non-Hodgkin lymphoma* – nieziarniczy chłoniak złośliwy
- NRM – *non-relapse mortality* – umieralność spowodowana przyczynami innymi niż progresja nowotworu

- NS – *non-significant* – nieistotny statystycznie
- OS – *overall survival* – przeżycie całkowite
- p – współczynnik istotności statystycznej
- PBSCT – *peripheral blood stem cell transfusion* – transfuzja komórek macierzystych z krwi obwodowej
- PD – *progression of the disease* – progresja nowotworu
- PDD – *percentage depth dose* – procentowa dawka głębokościowa
- PFS – *progression-free survival* – przeżycie wolne od progresji nowotworu
- PR – *partial remission* – częściowa remisja
- PS – *performance status* – stan sprawności
- RFS – *relapse-free survival* – przeżycie wolne od wznowy
- rhG-CSF – *recombinant-human granulocyte colony stimulating factor* – rekombinowany ludzki czynnik wzrostu kolonii granulocytów
- rhGM-CSF – *recombinant human granulocyte-monocyte colony stimulating factor* – rekombinowany ludzki czynnik wzrostu kolonii granulocytów i monocytów
- RIT – *radioimmunotherapy* – leczenie przeciwciałami monoklonalnymi sprzężonymi z izotopami
- RRT – *regimen-related toxicity* – toksyczność zależna od schematu leczenia
- SD – *stable disease* – stabilizacja choroby
- SOS – *sinusoidal obstruction syndrome* – zespół niedrożności zatokowej wątroby, dawniej choroba wenookluzyjna (VOD)
- TBI – *total body irradiation* – napromienianie całego ciała
- TMI – *total marrow irradiation* – napromienianie całego szpiku kostnego
- TNI – *total nodal irradiation* – napromienianie wszystkich grup węzłów chłonnych



## 1. WSTĘP

### 1.1. Leczenie nowotworów litych z udziałem przeszczepiania komórek krwiotwórczych

Pierwsze przypadki całkowitych wyleczeń chorych na białaczkę i ziarnicę złośliwą w latach 60. dowiodły, że niektóre choroby nowotworowe można pokonać stosując chemioterapię. Leki cytotoksyczne działają przede wszystkim na aktywnie dzielące się komórki. Komórki macierzyste w tkankach zdrowych i komórki nowotworowe, dzięki skutecznym mechanizmom naprawy uszkodzeń subletalnych DNA, oporności na sygnały proapoptotyczne oraz zdolności do aktywnego wypompowywania cytostatyków, są jednak często odporne na leczenie. Przetrwale pluripotencjalne, złośliwe komórki macierzyste stanowią tak zwaną „*side population*” czyli pulę komórek „ospałych” (*dull cells*), pozostających przez większość czasu w fazie G<sub>0</sub>, i z tego powodu mogących być przyczyną nawrotu choroby nowotworowej [1-3]. Potwierdzają to obserwacje kliniczne. Nawet w tak chemiowrażliwych nowotworach, jak chłoniaki rozlane z komórek B, wyleczenia po zastosowaniu standardowych dawek leków cytotoksycznych uzyskuje się u zaledwie 30% chorych. Zastosowanie wyższych dawek stwarza nadzieję na zniszczenie komórek opornych na konwencjonalne leczenie, a tym samym – zmniejszenie ryzyka nawrotu. Niestety próg tolerancji układu krwiotwórczego ogranicza możliwość stosowania wysokodawkowej chemioterapii (HDC), czy podwyższania całkowitej dawki napromieniania całego ciała. Względnie bezpieczne zastosowanie leków w dawkach mieloablacyjnych, ograniczonych jedynie progiem tolerancji narządów mięszowych, jest natomiast możliwe po podaniu pobranych wcześniej i zamrożonych komórek krwiotwórczych. Strategia ta stanowi istotę zabiegu znanego pod nazwą autotransplantacji komórek układu krwiotwórczego (autoHCT). Mechanizm leczniczy autoHCT wydaje się polegać przede wszystkim na eliminacji zasadniczej masy guza w wyniku zastosowania wyższej od standardowej dawki chemioterapii. Otwiera to potencjalne możliwości reaktywacji własnych mechanizmów immunologicznych wobec komórek przetrwałych, opornych na chemioterapię, które, choć nieliczne, mogą stanowić źródło nawrotu choroby. Dane doświadczalne sugerują, że chemioterapia, zabijając komórki nowotworowe (najczęściej w mechanizmie apoptozy), wyzwała odpowiedź układu immunologicznego. Odpowiedź ta pozwala wyeliminować komórki, które przeżyły chemioterapię. Możliwość osłabienia tej reakcji przez zastosowanie inhibitora kaspaz (Z-VADfmk) stanowi pośrednie potwierdzenie jej immunologicznego mechanizmu [4]. Ponadto autoHCT stwarza możliwość egzogennej stymulacji układu odpornościowego przez zastosowanie cytokin (np. interferonu) lub szczepionek przygotowanych z wcześniej pobranych komórek nowotworowych. Od lat 90. podejmowane są próby stosowania autoHCT w leczeniu chemiowrażliwych chorób rozrostowych,

takich jak ostre białaczki, szpiczak mnogi, chłoniaki złośliwe, chłoniaki Hodgkina, nerwiak zarodkowy, mięsak Ewinga, guzy zarodkowe jąder, czy rak jajnika. Dwie trzecie spośród około 30.000 autologicznych transplantacji wykonywanych rocznie na świecie obejmuje chorych na szpiczaka i chłoniaki złośliwe [5]. We wskazaniach niehematologicznych najczęstszym źródłem materiału przeszczepowego są komórki pochodzące z krwi obwodowej a nie, jak do niedawna, własne komórki szpiku kostnego. Od późnych lat 80. istnieje też możliwość korzystania z komórek pochodzących z krwi pępowinowej [6, 7]. Z tego powodu obecnie procedurę tę określa się bardziej ogólnym terminem przeszczepienia komórek macierzystych układu krwiotwórczego (*hematopoietic stem cell transplantation*, HSCT) lub krócej – przeszczepienia *komórek układu krwiotwórczego* (HCT). To ostatnie określenie najpełniej oddaje ideę samego zabiegu, gdyż oprócz komórek macierzystych przeszczepiane są również inne komórki układu krwiotwórczego, takie jak limfocyty czy monocyty. Ich rodzaj i liczba zależy od rodzaju przeszczepu, gdyż szpik, krew obwodowa, czy krew pępowinowa różnią się pod względem składu komórkowego. Poważne, niejednokrotnie śmiertelne powikłania po zastosowaniu HCT wynikają z zakażeń, krwotoków oraz toksycznego uszkodzenia narządów miękkich. Obecnie uważa się, że ryzyko powikłań okołoprzeszczepowych po autoHCT jest niewielkie. Dlatego pomimo wyższego niż po przeszczepach allogenicznych czy syngenicznych ryzyka nawrotu z powodu kontaminacji materiału przeszczepowego komórkami nowotworowymi, metoda ta może być przydatna także w leczeniu starszych pacjentów, u których nowotwory występują szczególnie często.

## **1.2. Metody kondycjonowania**

Kondycjonowanie, czyli postępowanie przygotowawcze przed przeszczepieniem komórek hematopoetycznych, jest pierwszym etapem leczenia, które ma na celu zniszczenie choroby podstawowej oraz konieczne do przyjęcia przeszczepu zablokowanie układu odpornościowego biorcy. Najczęściej stosowana jest wysokodawkowa chemioterapia lub napromienianie całego ciała.

### **1.2.1. Napromienianie całego ciała (TBI)**

TBI jest najdłużej stosowaną metodą mieloablacyjnego postępowania poprzedzającego przede wszystkim allogeniczne HCT w leczeniu chorób hematologicznych oraz (rzadziej) autologiczne HCT w leczeniu guzów litych. TBI jest szczególną techniką radioterapii, w której na całe ciało chorego podaje się z dużych pól fotonowych promieniowanie w jednorodnej dawce.

Modyfikacją tej techniki jest napromienianie połowy ciała (*half body irradiation* – HBI) oraz podobne procedury, w których częściowo lub całkowicie osłania się wybrane narządy krytyczne. Podobnie, duże pola fotonowe stosuje się przy napromienianiu obszarów zawierających węzły chłonne i śledzionę (*total nodal irradiation* – TNI). Pierwsze próby stosowania TBI rozpoczęto na początku XX wieku na zwierzętach. W latach 30. w Memorial Sloan-Kettering Cancer Research Institute, Chicago Tumor Institute i University of California Hospital w USA TBI w dawce od 100 do 450 rentgenów (R) podawano chorym na różne nowotwory łe, w których nie znano innego skutecznego postępowania [8]. Ówczesna aparatura ortowoltowa (250 kV) nie pozwalała na podanie na całe ciało pacjenta jednorodnej dawki i w efekcie większa jej część była pochłaniana w skórze i tkance podskórnej. Pomimo tych ograniczeń szybko stwierdzono, że efekt TBI był zależny od czasu trwania napromieniania, metody frakcjonowania dawki i jej intensywności. Dawka 450 R okazała się zbyt niska aby zniszczyć guz, nie uszkadzając szpiku kostnego. Po podaniu jednej dawki 200 R chorzy mieli więcej objawów toksycznych niż po 5 frakcjach po 40 R. Frakcjonowanie umożliwiło więc podwyższenie dawki całkowitej bez znaczącego zwiększenia mediany dawki letalnej, która wynosi dla ludzi 300 R. W tej sytuacji TBI stał się przede wszystkim częścią postępowania kondycjonującego przed allogenicznym, syngenicznym lub autologicznym przeszczepieniem szpiku kostnego. W 1972 roku opublikowano wyniki pierwszych udanych przeszczepień allogenicznych szpiku przeprowadzonych z zastosowaniem TBI we Fred Hutchinson Cancer Research Center w Seattle, USA [9-11]. Zakładano, że napromienianie zniszczy komórki nowotworowe, których ze względu na lokalizację lub chemiooporność nie da się wyeliminować innymi metodami. W ten sposób stwarzano równocześnie miejsce dla „nowego” szpiku, podczas gdy działanie immunosupresyjne promieniowania jonizującego miało ułatwić przyjęcie przeszczepu. W istocie efekt immunosupresyjny jest równie ważny co cytotoksyczny. Dawka 10 Gy podana w jednej frakcji powoduje immunosupresję wystarczającą do przyjęcia przeszczepu [10]. Niskie dawki całkowite TBI znalazły zastosowanie w postępowaniu nie-mieloablacyjnym, które opracowano dla starszych chorych, obciążonych często wieloma chorobami internistycznymi i nie kwalifikujących się do toksycznego standardowego kondycjonowania [12, 13]. Za efekt przeciwnowotworowy odpowiada w takim kondycjonowaniu reakcja przeszczepu przeciw białaczce (*graft versus leukemia*). TBI, stosowane w dawce całkowitej 2 Gy z użyciem lub bez użycia leku z grupy analogów purynowych – fludarabiny, powoduje immunosupresję wystarczającą do uzyskania długotrwałego mieszanego chimeryzmu, nie narażając chorych na poważne objawy niepożądane. Już w latach 90. badania kliniczne u chorych na białaczki wykazały zależność pomiędzy odsetkiem wyleczeń a dawką całkowitą TBI. W nowotworach litych pożądanym byłoby podanie dawki wyższej niż 40 Gy [14, 15]. Wysokie ryzyko

śmiertelnych powikłań uniemożliwia jednak podanie dawek wyższych niż 10 Gy w jednej frakcji lub jej biologicznych równoważników [16-26]. Jednak nawet po takich dawkach, a niekiedy jeszcze w trakcie leczenia, pojawiają się objawy niepożądane, w tym zapalenie błon śluzowych, biegunka, nudności i wymioty, zaczerwienie skóry, zapalenie gruczołów ślinowych, zapalenie popromienne płuc, zespół niedrożności zatokowej wątroby (SOS), czy przedłużająca się pancytopenia. Później mogą się rozwinąć objawy uszkodzenia narządów mięszszowych, na przykład zwłóknienie płuc, niewydolność wątroby czy nerek, zaćma, niewydolność przysadki, niepłodność, zaburzenia wzrostu u dzieci, a także nowotwory wtórne [23, 25, 27-30]. W nowotworach litych brakuje przekonujących dowodów na znaczenie reakcji przeszczepu wobec nowotworu (*graft versus tumor*). Dlatego brak możliwości podwyższenia dawki TBI wymusił kojarzenie tej metody z wysokodawkową chemioterapią. Ponad 30 lat doświadczeń nie doprowadziło do wyjaśnienia rzeczywistej roli TBI stosowanego w skojarzeniu z przeszczepami allogenicznymi i autologicznymi. Zagadnienie to było przedmiotem wielu doniesień, jednak trudno jest porównywać wyniki leczenia i toksyczność poszczególnych schematów i technik kondycjonowania. W przypadku TBI stosowano napromienianie techniką jednego dużego pola lub pól łączonych, wiązkami przednio-tylnymi (AP/PA) lub bocznymi. Dawkę całkowitą podawano w jednej frakcji, metodą konwencjonalnego, hiper- lub hipofrakcjonowania [16]. Różnice dotyczyły także wysokości dawki całkowitej, mocy dawki, stosowania osłon czy kompensatorów tkankowych [31]. TBI stosowano jako metodę samodzielną lub w skojarzeniu z różnymi schematami chemioterapii. Tylko w nielicznych badaniach zastosowano losowy dobór chorych [32, 33].

#### 1.2.1.1. Techniki TBI

TBI wymaga specjalnej techniki napromieniania. W niektórych ośrodkach tworzono w tym celu specjalne pomieszczenia lub opracowywano własne metody, pozwalające na wykorzystanie dostępnych wówczas urządzeń [34-39]. W TBI stosowano aparaty ze źródłem  $^{60}\text{Co}$  lub przyspieszacz liniowy o różnych energiach (od 6 do 42 MeV). Ze względu na dużą różnicę pomiędzy wymaganą wielkością pól ( $\leq 2 \text{ m} \times \leq 0,6 \text{ m}$ ) a maksymalnym wymiarem pól dla danego aparatu ( $0,4 \times 0,4 \text{ m}$ ), do TBI wykorzystuje się poruszające się źródło promieniowania, ruchomy stół do napromieniania albo zwiększoną odległość od źródła promieniowania (*source-skin distance* – SSD). Obecnie planowanie leczenia odbywa się najczęściej na podstawie przekrojów zebranych w badaniu tomokomputerowym indywidualnie z całego ciała chorego. Daje to możliwość dokładnego obliczenia dawek oraz przygotowania indywidualnych kompensatorów tkankowych. Od niespełna dwóch lat prowadzone są badania nad stosowaniem techniki spiralnej tomoterapii (*helical tomotherapy* – HT) [40,

41] i techniki wykorzystującej modulację intensywności dawki – IMRT [42, 43]. Obie te metody mogą być jednak stosowane wyłącznie w ośrodkach wyposażonych w najnowocześniejszy sprzęt do planowania i prowadzenia napromieniania. Lepsza opieka okołotransplantacyjna oraz zastosowanie specjalistycznych technik pozwalających uzyskać bardziej jednorodną dawkę i większą ochronę narządów krytycznych, czynią TBI nadal atrakcyjną metodą kondycjonowania.

### **1.2.2. Wysokodawkowa chemioterapia**

W latach 90. upowszechniono zapoczątkowaną w latach 80. wysokodawkową chemioterapię (HDT) ze wsparciem komórek krwiotwórczych. Początkowo stosowano wyłącznie leki alkilujące, ponieważ zarówno w badaniach *in vitro*, jak i *in vivo* wykazano ścisłą liniowo-logarytmiczną zależność pomiędzy dawką leku alkilującego a efektem. W badaniach II fazy uzyskiwano wysoki odsetek obiektywnych odpowiedzi w wielu chorobach nowotworowych. Mediana czasu do progresji rzadko jednak przekraczała 30 miesięcy, w tym również u chorych w dobrym stanie (stan sprawności według ECOG <3), u których nie doszło do chemiooporności po wcześniejszym podaniu maksymalnie dwóch schematów standardowych [44-54]. Spośród nowotworów litych HDT stosowano najczęściej u chorych na raka piersi. HDT w tym zastosowaniu oceniono w 14 badaniach III fazy z losowym doбором chorych, obejmujących łącznie 5627 chorych, w tym 423 chorych (7 badań) w stadium rozsiewu. Niemal we wszystkich badaniach wyniki leczenia były lepsze w grupie chorych poddanych HDT, zarówno w odniesieniu do odsetka obiektywnych odpowiedzi (RR) na leczenie, jak i czasu do nawrotu (DFS). Z drugiej strony w żadnym badaniu nie wykazano znamiennego wpływu HDT na całkowity czas przeżycia (OS) [45, 55]. W największym duńskim badaniu z randomizacją analiza podgrup wykazała znamienne poprawę DFS i OS w grupie chorych na raka piersi nie wykazującego nadekspresji receptora HER2 oraz z zajęciem co najmniej 10 węzłów chłonnych pachowych [56]. Większość schematów HDT oparta jest o związki alkilujące, takie jak cyklofosfamid czy tiotepa, czasami w połączeniu z pochodnymi platyny. Związki te powodują uszkodzenia DNA, które najczęściej są następnie naprawiane w procesie homologicznej rekombinacji. Istniejące alternatywne szlaki naprawcze są potencjalnie mutagenne [57]. Około 30% uwarunkowanych dziedzicznie raków piersi u nosicielek mutacji genów BRCA1, BRCA2 lub EMSY oraz tak zwane raki „potrójnie ujemne”, czyli nie wykazujące ekspresji receptorów estrogenowych, progesteronowych i HER2, wykazują czynnościowy defekt homologicznej rekombinacji i w rezultacie „nadwrażliwość” na leki alkilujące i pochodne platyny [58]. Teoretycznie w tej grupie chorych korzyść z leczenia HDT powinna być największa. Nie ma natomiast żadnych danych dotyczących skuteczności HDT w zależności od lokalizacji przerzutów [50, 56, 59, 60].

Chemioterapię wysokodawkową ze wspomaganiami komórkami układu krwiotwórczego próbuje się także stosować w leczeniu innych nowotworów litych np. w zarodkowych guzach gonad, raku jajnika i drobnokomórkowym raku płuca [61-63]. Obiecujące wyniki wczesnych badań drugiej fazy z początku lat 1990. nie potwierdziły się jednak w późniejszych badaniach III fazy. W efekcie w 2005 roku tylko 10% auto-HCT wykonano ze wskazań pozahematologicznych [64]. W najnowszych zaleceniach EBMT (European Group for Blood and Marrow Transplantation) dotyczących chorych dorosłych, auto-HCT uznano za standardowe postępowanie jedynie w przypadku tzw. chemiowrażliwego nawrotu nowotworów zarodkowych o typie nienasieniaka [65]. Nawet jednak w tej grupie nadal nie ma jednoznacznych dowodów skuteczności auto-HCT [64, 65]. Niedawno opublikowane badanie III fazy porównujące zastosowanie konsolidacji w formie auto-HCT z chemioterapią konwencjonalną w pierwszej linii leczenia źle rokujących chorych na nienasieniaka, nie wykazało różnic w przeżyciu wolnym od choroby oraz przeżyciu całkowitym. Wykonanie auto-HCT zamiast kontynuowania standardowej chemioterapii poprawiło jednak wyniki leczenia u chorych z powolnym obniżaniem się stężenia alfa-fetoproteiny pod wpływem chemioterapii według schematu BEP [63].

U chorych na raka jajnika, podobnie jak w raku piersi, zastosowanie auto-HCT jest uzasadnione jedynie w ramach dobrze zaplanowanych badań klinicznych. Mają one na celu ocenę przydatności auto-HCT u chorych na zaawansowanego raka jajnika w trakcie pierwszej całkowitej remisji. Nadal niejasna jest rola auto-HCT w drobnokomórkowym raku płuca, tym bardziej, że żadne z dotychczasowych badań nie wykazało korzyści związanej z tą metodą. Udokumentowane wskazania do auto-HCT istnieją natomiast u dzieci i młodych dorosłych w leczeniu rozlanego nerwiaka zarodkowego, mięsaków tkanek miękkich i mięsaka Ewinga [61, 65].

Obecnie autoHCT stosuje się najczęściej w leczeniu szpiczaka mnogiego i agresywnych chłoniaków. Szpiczak mnogi jest chemiowrażliwą, ale nieuleczalną chorobą nowotworową, najczęściej rozwijającą się w szpiku kostnym. Współczesne metody leczenia pozwalają na uzyskanie mediany całkowitego czasu przeżycia w zakresie 3-4 lat. Zastosowanie chemioterapii standardowej VAD (winkrystyna, doksorubicyna, deksametazon), VMCP (winkrystyna, melfalan, cyklofosfamid, prednizon), czy MP (melfalan, prednizon), D (deksametazon) pozwala uzyskać od 0 do 7% całkowitych i około 50% częściowych remisji [66, 67]. W latach 80. w leczeniu szpiczaka po raz pierwszy wykazano większą skuteczność wysokich dawek melfalanu ( $100-140 \text{ mg/m}^2$ ) w porównaniu z dawkami standardowymi [68, 69]. Ze względu na bardzo wysoką mielotoksyczność konieczne było połączenie tego leczenia z przeszczepieniem autologicznego szpiku kostnego, w kolejnych latach zastąpionego przez HSC [70-72]. Stosowanie HDT pozwoliło uzyskać lepsze wyniki w porównaniu z leczeniem standardowym, co sugerowało możliwość

przełamania chemooporności przez zastosowanie jeszcze wyższych (140-200 mg/m<sup>2</sup>) dawek melfalanu. Znamienne wydłużenie czasu przeżycia potwierdzono w badaniach II i III fazy [52, 53, 73-75]. Przez wiele lat u chorych nie zakwalifikowanych do leczenia mieloablacyjnego powszechnie stosowano schematy zawierające leki alkilujące, a u potencjalnych kandydatów do przeszczepienia szpiku – schematy bez leków alkilujących [72]. Efekt leczenia indukcyjnego – remisja całkowita (CR), częściowa (PR) lub stabilizacja (SD) – nie miał znaczenia przy kwalifikacji do wysokodawkowej chemioterapii i prawdopodobnie z tego powodu w niektórych badaniach nie potwierdzono wyższej skuteczności intensywnej chemioterapii. Intensywna chemioterapia nie przyniosła również spodziewanych korzyści u chorych z nawrotem po leczeniu pierwszorazowym [76].

W leczeniu agresywnych chłoniaków nieziarnicznych od ponad 15 lat złotym standardem jest klasyczny schemat zawierający antracykliny [77]. Odsetek pięcioletnich przeżyć całkowitych u chorych w II stopniu zaawansowania nowotworu waha się, zależnie od wyniku międzynarodowego wskaźnika rokowniczego (IPI) w szerokich granicach od 40 do 75% [78, 79]. Wysokie ryzyko nawrotu, niewielka skuteczność schematów II rzutu, w tym zawierających nowe leki powodują, że autoHCT jest metodą z wyboru w leczeniu niepowodzeń u chorych na chłoniaki o wysokiej i pośredniej złośliwości [77, 80, 81]. Dotychczas nie wykazano korzystnego wpływu autoHCT w leczeniu pierwszorazowym chorych z grupy wysokiego ryzyka, ale badania kliniczne są w toku. Wydaje się, że najmniejszą korzyść z takiego leczenia odnoszą chorzy, u których nie uzyskano odpowiedzi po leczeniu standardowym. W grupie tej 5 lat bez nawrotu przeżywa 35-45% chorych, a ryzyko śmiertelnych powikłań nie przekracza 10% [82-89, 90-93]. Nierandomizowane badania wskazują, że u około 50% chorych, szczególnie w wieku powyżej 60 lat, HDC z autoHCT jest zbyt toksyczna [94]. Do niedawna nie stosowano autoHCT w leczeniu chłoniaków o niskiej złośliwości. Znaczące wydłużenie czasu przeżycia wolnego od choroby oraz czasu całkowitego przeżycia u chorych ze wznową chłoniaka grudkowego (FL) poddanych transplantacji wykazało dopiero opublikowane w 2003 roku badanie CUP, porównujące chemioterapię (C) wobec autologicznego przeszczepienia bez oczyszczania (*unpurged*, U) i z oczyszczaniem (*purged*, P) [95]. Czteroletnie przeżycie chorych leczonych bez udziału transplantacji, z zastosowaniem transplantacji bez oczyszczania lub poddanych transplantacji z oczyszczaniem wynosiło odpowiednio 46%, 71% i 77%. Z uwagi na małe liczebności poszczególnych grup nie można było jednoznacznie ocenić wpływu oczyszczania materiału przeszczepowego na wyniki transplantacji. Rolę autoHCT jako konsolidacji w pierwszej remisji oceniono w kilku badaniach, w dwóch wykazując istotne wydłużenie czasu przeżycia wolnego od choroby (PFS) w ramieniu z transplantacją, jednak bez wpływu na czas całkowitego przeżycia [96, 97]. Poprawę zaobserwowano wyłącznie u chorych o złym

rokowaniu według międzynarodowego wskaźnika rokowniczego FLIPI. Brak wydłużenia czasu całkowitego przeżycia po leczeniu z udziałem przeszczepienia mimo istotnego wydłużenia czasu do nawrotu wynikał ze zwiększonej śmiertelności spowodowanej nowotworami wtórnymi, głównie MDS i AML (8,5% w porównaniu z 0% w grupie poddanej chemioterapii). W ostatnio opublikowanym badaniu francuskiej grupy GELA nie potwierdzono korzyści ze stosowania autoHCT w konsolidacji pierwszej remisji FL [98]. Obecnie autoHCT zaleca się jedynie w przypadku drugiej wznowy, szczególnie jeśli wystąpiła szybko (< 6 miesięcy) po zakończeniu poprzedniego leczenia. Skuteczność tej metody można dodatkowo zwiększyć przez dołączenie do postępowania przygotowawczego rituksymabu lub innego przeciwciała monoklonalnego antyCD20 skoniugowanego z radioizotopem. Z dotychczasowych doświadczeń wynika, że zwlekanie z autoHCT lub z RIT do czasu kolejnej progresji nie poprawia wyników leczenia, być może z powodu rozwoju chemiooporności. Tylko badania z losowym doborem chorych mogą rozstrzygnąć, czy i który ze sposobów leczenia jest skuteczniejszy.

Kolejnym wskazaniem do stosowania autoHCT jest chłoniak z komórek płaszczka (MCL), w którym klasyczna chemioterapia pozwala uzyskać wysoki odsetek obiektywnych odpowiedzi (50-70%), ale okres wolny od nawrotu jest krótki (6-18 miesięcy), a mediana czasu całkowitego przeżycia wynosi 30-40 miesięcy [99, 100]. Dodanie rituksymabu do CHOP zwiększyło częstość uzyskiwania odpowiedzi, jednak nie wydłużyło czasu przeżycia do nawrotu choroby [101]. W tej sytuacji próbę poprawy wyników leczenia chłoniaka MCL upatruje się w autologicznej lub allogenicznej HCT, jako konsolidacji pierwszej remisji. Wyniki pierwszych badań wskazują na znaczące wydłużenie czasu do progresji w grupie chorych poddanych autologicznej transplantacji w porównaniu do grupy otrzymującej chemioterapię i interferon alfa w okresie całkowitej remisji [102, 103]. Dalszej poprawy wyników autoHCT można upatrywać w intensyfikacji chemioterapii przed transplantacją poprzez dodanie wysokich dawek arabinozydu cytozyny [104] lub dodanie do postępowania przygotowawczego rituksymabu lub innego przeciwciała monoklonalnego antyCD20 skoniugowanego z radioizotopami. Ten ostatni, obiecujący sposób leczenia zapoczątkował Gopal i wsp., stosując <sup>131</sup>I tositumomab w połączeniu z chemioterapią wspomaganą autoHCT. Autorzy ci uzyskali u 16 chorych ze wznową MCL 100% odpowiedzi, w tym 91% całkowitych, przy 3-letnim przeżyciu całkowitym i wolnym od nowotworu wynoszącym odpowiednio 93% i 61% [105]. Inne metody leczenia z udziałem przeciwciał antyCD80 (galiksimab), inhibitorów proteasomu (bortezomib), czy inhibitorów mTOR (temsirolimus) są obecnie podejmowane wyłącznie w przypadku wznowy lub przetrwałej choroby po autoHCT [106-108].



### 1.2.3. *Terapia tandemowa*

U większości chorych na szpiczaka mnogiego dotychczasowy schemat leczenia polegający na osiągnięciu, a następnie podtrzymywaniu remisji, był nieskuteczny. W chwili osiągnięcia klinicznej całkowitej remisji, w organizmie chorego nadal obecne są komórki nowotworowe, jednak ich liczba jest poniżej progu wykrywalności. Można zatem oczekiwać, że ponowne leczenie wysokodawkowe w okresie całkowitej remisji powinno poprawić odległe wyniki leczenia. Czysto arytmetyczne przesłanki stały się podstawą do rozpoczęcia terapii tandemowej, która polega na planowym, dwukrotnym (w czasie około 6 miesięcy) leczeniu wysokodawkowym (mieloablacyjnym) z przeszczepieniem, najczęściej autologicznych, komórek macierzystych szpiku. Komórki macierzyste w liczbie pozwalającej na ich dwukrotne zastosowanie pobierane są jeden raz – przed pierwszym przeszczepieniem. Drugie przeszczepienie odbywa się po ustąpieniu wszystkich objawów niepożądanych spowodowanych pierwszym zabiegiem.

Pierwsze próby stosowania terapii tandemowej u młodych i nie obciążonych internistycznie chorych na szpiczaka podjęły niezależnie dwie grupy badawcze: francuska IFM oraz Barlogie i wsp. z Uniwersytetu w Arkansas, USA [53, 73, 109, 110, 111]. W pierwszym prospektywnym badaniu klinicznym stosowano 3 cykle chemioterapii według schematu VAD (winkrystyna, doksorubicyna, deksametazon), a następnie cyklofosfamid w wysokiej dawce i rhG-CSF w celu mobilizacji i zbiórki krwiotwórczych komórek obwodowych. Kolejno podawano 1 cykl EDAP (etopozyd, deksametazon, arabinozyd cytozyny, cisplatyna), a po nim melfalan ( $200 \text{ mg/m}^2$ ) z późniejszym przeszczepieniem HSC. Po 3-6 miesiącach podawano powtórnie melfalan i HSCT. Leczeniem podtrzymującym był interferon alfa. Leczenie ukończyło 71% chorych, 5% chorych zmarło z powodu powikłań w trakcie indukcji: 1% po pierwszym i 4% po drugim podaniu melfalanu. Całkowitą remisję odnotowano u 5% chorych po leczeniu VAD, 26% – po pierwszym i 41% – po drugim podaniu melfalanu. Mediana czasu przeżycia bez objawów nawrotu wydłużyła się o 27 miesięcy, a odsetek 10-letnich przeżyć całkowitych wzrósł do 33%, w porównaniu do 15% w poprzednich doniesieniach [109]. W innym badaniu odsetek CR wyniósł 49% po leczeniu jednym cyklem HDT z PBSCT w porównaniu z 63% po leczeniu tandemowym. Odsetek 7-letnich przeżyć w grupie chorych, którzy otrzymali jeden cykl HDT z PBSCT wyniósł 21% w porównaniu do 42% w grupie leczonych schematem tandemowym. Odsetek 7-letnich przeżyć u chorych, u których nie udało się osiągnąć CR po pierwszym leczeniu intensywnym, wynosił 11% po podaniu jednego cyklu HDC, w porównaniu do 43% po leczeniu tandemowym [112]

W szpiczaku najważniejszym czynnikiem rokowniczym jest uzyskanie całkowitej remisji po leczeniu pierwszorazowym. Tandemowe leczenie mieloablacyjne nie tylko zwiększyło odsetek całkowitych remisji, ale także wydłużyło czas do nawrotu. Po tych pierwszych zachęcających doświadczeniach

pojawiły się nowe próby, w których oceniano stosowanie dwóch lub więcej schematów HDT z PBSCT składających się z tych samych cytostatyków podawanych cyklicznie lub z różnych, podawanych sekwencyjnie – z lub bez TBI [73-75, 112, 113]. W leczeniu tandemowym porównywano schematy kondycjonowania różniące się dawką melfalanu (140 vs 200 mg/m<sup>2</sup>) oraz udziałem TBI [113].

Wielokrotnie powtarzana chemioterapia wysokodawkowa oraz TBI wiąże się z dużym ryzykiem powikłań. Główne objawy niepożądane to zapalenie błon śluzowych jamy ustnej, neutropenia, zakażenia, małopłytkowość wymagająca przetoczeń płytek krwi, zespół zatokowej niedrożności wątroby i popromienne zapalenie płuc. Nie jest to więc metoda zalecana u chorych w wieku powyżej 65 lat. Równocześnie u młodych chorych podejmowano badania kliniczne z zastosowaniem terapii tandemowej z jeszcze bardziej intensywną chemioterapią i lekiem antyangiogennym talidomidem, a w leczeniu podtrzymującym – z interferonem i bisfosfonianami. Ostateczne wyniki tych badań nie zostały dotychczas przedstawione. Obecnie w leczeniu szpiczaka mnogiego oprócz tradycyjnych cytostatyków stosuje się inhibitory angiogenezy, takie jak talidomid czy lenalidomid, immunomodulatory, oraz inhibitor proteasomu (bortezomib) [114, 115]. Założeniem takiego leczenia jest osiągnięcie długotrwałych częściowych i całkowitych remisji oraz wyodrębnienie chorych wymagających wysokodawkowej chemioterapii.

#### ***1.2.4. Napromienianie całego szpiku (TMI) w leczeniu tandemowym***

Występowanie przerzutów do kości jest częstym powikłaniem chorób nowotworowych [116-118]. Niemal 80% ogółu nowotworów, w których dochodzi do rozsiewu kostnego, stanowią rak piersi i rak gruczołu krokowego [119]. Chora na przewodowego raka piersi z zajęciem trzech lub więcej regionalnych węzłów chłonnych ma około 30% ryzyko przerzutów do kości w ciągu 10 lat [117]. Niezależnie od typu histologicznego nowotworu kości są w raku piersi najczęstszą lokalizacją przerzutów oraz najczęstszą lokalizacją pierwszego uogólnionego nawrotu [119]. Przerzuty kostne występują także w innych nowotworach, na przykład u 15 do 30% chorych na raka płuca, tarczycy, nerki, żołądka i czerniaka złośliwego [117]. Ogółem przerzuty do kości występują u około 65% chorych na nowotwory. W Polsce rzeczywisty zakres tego problemu jest trudny do oszacowania z powodu niekompletnej zgłaszalności. Ze względu na bezobjawowy przebieg, niewystarczającą czułość i swoistość metod diagnostycznych oraz różny czas przeżycia zdarza się, że przerzuty do kości zostają rozpoznane dopiero na podstawie badania autopsyjnego [120-122]. Nacieczenie kości występuje w przebiegu szpiczaka mnogiego oraz rzadziej – w pierwotnych nowotworach kości, np. mięsaku Ewinga [123]. W USA z powodu chorób nowotworowych

z potwierdzonym klinicznie i radiologicznie zajęciem kości umiera rocznie 350 000 osób [116, 124].

Mechanizm szczególnej predylekcji niektórych nowotworów litych do tworzenia przerzutów w szpiku i kościach nie został do końca wyjaśniony. W 1889 roku Paget przedstawił w czasopiśmie „Lancet” hipotezę „seed and soil”, w myśl której komórki rakowe „przyjmują się” tam, gdzie znajdują sprzyjające warunki do swego rozwoju [125]. Jedną z takich sprzyjających cech może być wyjątkowo obfity przepływ krwi przez szpik czerwony, zwłaszcza w kręgach oraz miednicy [126]. Inne, to obecność na komórkach rakowych cząsteczek adhezyjnych, typowo występujących na komórkach stromalnych szpiku i kości. W warunkach fizjologicznych w kościach stale zachodzą procesy resorpcji i syntezy. Pozostają one w równowadze dzięki substancjom ogólnoustrojowym, takim jak witamina D, kalcytonina, czy parathormon, oraz substancjom parakrynnym, takim jak prostaglandyny, interleukina 1, 6 i 11, osteoprotegryna, receptorowy aktywator jądrowego czynnika  $\kappa$ B (RANK) i jego ligand (RANKL), osteokalcyna, a także czynniki wzrostowe: płytkowy, insulinopodobny (IGF), fibroblastów (np. FGF-8) i wiele innych [124, 127, 128]. Niektóre z nich, jak np. PTHrP, są wytwarzane w komórkach nowotworowych, powodując pobudzenie osteoklastów [129]. Dowodem na to mogą być zwapnienia w guzie lub chrzęstnienie (np. mikrokalcyacje w raku piersi) [116, 127, 128]. Zdolność do syntetyzowania wymienionych cytokin ułatwia proces powstawania nowych, wtórnych ognisk raka. Komórki nowotworowe podczas procesu adhezji wyzwalają substancje parakrynnie o działaniu angiogennym i osteolitycznym, powodującym destrukcję kości. Dodatkowo osteoblasty produkują ligand dla osteoprotegryny (OPG), która należy do rodziny receptorów dla czynnika martwicy guza (TNF). Kompleks ligand-OPG aktywuje osteoklasty i uruchamia proces niszczenia kości, czyli osteolizę [116, 118].

W większości chorób rozrostowych przerzuty kostne najczęściej lokalizują się w kręgosłupie, żebrach i miednicy i mają charakter mieszany – osteoblastyczno-osteolityczny. W raku piersi przeważają przerzuty osteolityczne (ogółem 80% przerzutów), w raku stercza – osteoblastyczne, a w szpiczaku mają one wyłącznie charakter osteolityczny [117, 119, 130]. Ze względu na ból i ryzyko złamania, przerzuty do kości niemal zawsze wymagają leczenia.

Zarówno pierwotne, jak i wtórne nowotworowe nacieczenie kości znacznie pogarsza jakość życia chorych. Ostry i przewlekły ból wymaga stosowania niesteroidowych leków przeciwzapalnych, oraz silnych środków przeciwbólowych z grupy opioidów. Złamania patologiczne wraz z bólem lub z zespołem ucisku rdzenia kręgowego, często z objawami porażenia kończyn, ograniczają ruchomość i pozbawiają chorych samodzielności. Hiperkalcemia spowodowana zajęciem układu kostnego może w niektórych przypadkach stanowić bezpośrednie zagrożenie życia, a mniej zaawansowana przebiega z objawami neuropsychiatrycznymi. Mediana czasu przeżycia chorych na raka

piersi, u których wystąpiła hiperkalcemia, wynosi od 3 do 4,5 miesięcy. Przyjmowanie bisfosfonianów, silnych środków przeciwbólowych, w tym opioidów, napromienianie, neurochirurgiczne zabiegi odbarczające, czy ortopedyczne zabiegi zespalające, a także znacznego stopnia ograniczenie ruchomości i utrata samodzielności, nie tylko niekorzystnie wpływają na jakość życia chorych, ale także bardzo zwiększają koszty opieki. Chirurgiczne usuwanie ognisk nowotworu, systemowe podawanie cytostatyków, leków hormonalnych, czy stosowanie radioterapii przynosi wyłącznie paliatywny efekt. W raku piersi mediana czasu przeżycia chorych z przerzutami ograniczonymi do układu kostnego wynosi około 24 miesiące, podczas gdy u chorych z równoczesnym zajęciem narządów mięszkowych, np. wątroby, płuc, czy mózgu – jedynie 3 miesiące [117, 119]. Rokowanie chorych z przerzutami do kości zależy także od rodzaju nowotworu, stanu sprawności (PS), a także czasu wystąpienia nawrotu po leczeniu pierwotnym i odpowiedzi na wcześniej stosowane leczenie [131-133]. W piśmiennictwie brakuje danych dotyczących wpływu HDC z przeszczepieniem autologicznych komórek krwiotwórczych na wyniki leczenia chorych na zaawansowane nowotwory złośliwe z zajęciem kości i/lub szpiku [60]. Wiadomo, że radioterapia jest skuteczną metodą paliatywnego leczenia w szpiczaku mnogim i w przerzutach do kości w przebiegu wielu nowotworów litych. Pod wpływem tej metody ustąpienie lub znaczące złagodzenie bólu udaje się osiągnąć u około 80% chorych [134-137].

### ***1.2.5. Wpływ współistniejących chorób na wyniki leczenia***

Definicję obciążających współistniejących chorób, czyli takich, które wystąpiły w przeszłości albo równocześnie z chorobą główną, zaproponował we wczesnych latach 70. Feinstein [138]. Zwrócił on uwagę, że współistniejące choroby, podobnie jak wiek i stan sprawności, mają wpływ na wyniki leczenia choroby zasadniczej [138]. Zależność tę badano w różnych chorobach przewlekłych i w nowotworach [139-144]. Największym jak dotąd problemem było określenie, jaki wpływ na wyniki leczenia mają choroby współistniejące oraz ich nasilenie. Próba zobiektywizowania wpływu różnych chorób towarzyszących było utworzenie punktowej skali (*comorbidity index* – wskaźnik współistniejących chorób obciążających) na podstawie arbitralnie wybranych 19 różnych schorzeń przewlekłych [145, 146]. W przypadku badań prospektywnych sytuację utrudnia wykluczanie z udziału w badaniach chorych obciążonych wieloma spośród przyjętych 19 współistniejących chorób, mimo że niektóre z nich nie są bezwzględnym przeciwwskazaniem do leczenia poza protokołami klinicznymi. Z tego powodu wpływ współistniejących chorób na wyniki leczenia chorych poza badaniami prospektywnymi jest niemal nieznan.

## 2. CEL PRACY

Zachęcające wyniki leczenia tandemowego chorych na szpiczaka mnogiego oraz skuteczność radioterapii w przerzutach do kości zapoczątkowały podejmowanie prób leczenia z udziałem podwójnych autoHCT w innych nowotworach, w tym mięsaku Ewinga, chłoniakach, czy nerwiaku zarodkowym [48, 147-150]. Optymalny sposób leczenia tandemowego nie został jak dotąd ustalony. Nie wiadomo czy bardziej skuteczna jest HDT przed każdą transplantacją, czy stosować takie same, czy różne schematy, czy może skojarzyć HDT i TBI. Bezpieczeństwo leczenia jest bowiem nie mniej ważne jak jego skuteczność. Brak odpowiedzi na powyższe pytania stał się podstawą do przeprowadzenia badań przedstawionych w niniejszej rozprawie.

Głównym celem pracy była ocena tolerancji wysokodawkowej chemioterapii jako wyłącznej metody kondycjonowania lub – w leczeniu tandemowym – skojarzonej z napromienianiem całego szpiku/układu kostnego z późniejszym przeszczepieniem autologicznych komórek krwiotwórczych u chorych na zaawansowane guzy lite, chłoniaki złośliwe oraz szpiczaka mnogiego.

W pracy oceniono w szczególności:

1. Ryzyko wczesnych i odległych powikłań po zastosowaniu wysokodawkowej chemioterapii według następujących schematów kondycjonowania: BuMeITT (busulfan, melfalan, tiotepa) oraz BEAM (karmustyna, etopozyd, arabinozyd cytozyny, melfalan).
2. Możliwość leczenia tandemowego z udziałem HDC według schematu BuMeITT przed pierwszym, a TBI-TMI – przed drugim przeszczepieniem autologicznych komórek krwiotwórczych, w tym:
  - Wczesne i późne powikłania po kondycjonowaniu każdą z przedstawionych metod
  - Wpływ maksymalnej fizycznej dawki tolerancji (MTD) i jej biologicznego równoważnika (BED) na ryzyko wczesnych i odległych powikłań.
3. Wartość wskaźnika chorób towarzyszących (HCT-CI) w określaniu ryzyka zgonu z przyczyn innych niż nawrót lub progresja u chorych leczonych z udziałem autoHCT.

Oceny tej dokonano w powiązaniu ze skutecznością każdej z metod kondycjonowania.

### 3. BADANA GRUPA CHORYCH

Badania zrealizowano podczas pobytu autorki rozprawy we Fred Hutchinson Cancer Research Center (FHRC) w Seattle (USA) w latach 1998-2000 oraz 2005. Objęto nimi łącznie 164 chorych (83 kobiety i 81 mężczyzn) na zaawansowane nowotwory złośliwe, w wieku od 3 do 72 lat (mediana 52 lata). Chorzy ci otrzymywali w latach 1997–2005 leczenie z udziałem autologicznego lub syngenicznego przeszczepienia komórek krwiotwórczych. Protokoły badawcze uzyskały pozytywną opinię Komisji Bioetycznej Instytutu. We wszystkich przypadkach wymagane było uzyskanie świadomej zgody chorych (lub, w przypadku dzieci – ich prawnych opiekunów) na leczenie, po ich zapoznaniu z informacjami na temat terapii i jej możliwych powikłań. U wszystkich chorych obowiązywało wykonanie badania klinicznego, badania histopatologicznego, trepanobiopsji szpiku, TK klatki piersiowej, jamy brzusznej i miednicy, badania czynnościowego płuc, EKG, echokardiografii, badania cytologicznego patologicznych płynów wysiękowych, morfologii krwi, rozmazu i badań biochemicznych. Czynniki wykluczające z badania były: niewydolność krążenia (LVEF <50%), niewydolność oddechowa ( $DL_{CO}$  <60%), zły stan sprawności (ECOG >2), objawy niewydolności szpiku (ANC <1,5 x 10<sup>9</sup>/L, płytki krwi <50.000 x 10<sup>9</sup>/L) oraz niewydolność wątroby (stężenie bilirubiny >2 mg/dL, ASPAT i ALAT >2x norma) i/lub nerek (stężenie kreatyniny >1,5 mg/dL). Do leczenia nie kwalifikowano także chorych z czynnymi zakażeniami, w tym HIV. Warunkiem zakwalifikowania do leczenia tandemowego było dodatkowo potwierdzenie całkowitej remisji we wszystkich pozakostnych ogniskach przerzutowych, ustąpienie wszystkich objawów niepożądanych pierwszego leczenia mieloablacyjnego w czasie <60 dni, oraz zebranie liczby autologicznych komórek macierzystych umożliwiającej dwukrotną transplantację (co najmniej 2,5 x 10<sup>6</sup> komórek CD34+/kg masy ciała po pierwszym PBSCT).

Porównanie dwóch schematów kondycjonowania (BuMeITT i BEAM) przed autoHCT przeprowadzono w grupie 107 chorych w wieku od 33 do 72 lat (mediana 59 lat) z rozpoznanymi chłoniakami złośliwymi, zakwalifikowanych do HDC z PBSCT z następujących powodów:

- braku całkowitej remisji lub nawrotu choroby po pierwszorazowej chemio- lub chemioimmunoterapii,
- wysokiego ryzyka nawrotu pomimo uzyskania całkowitej remisji, z powodu obecności dwóch spośród następujących czynników: wysokiego stężenia LDH, III i/lub IV stopnia zaawansowania, stanu sprawności ECOG >1, zajęcia >1 okolicy pozawęzłowej, lub niekorzystnej postaci histopatologicznej.

U 103 chorych (96%) zastosowano autologiczne PBSC zebrane po mobilizacji rhG-CSF w dawce 10–32 µg/kg/dobę (n=11), lub chemioterapią i rhG-CSF (n=92). U czterech chorych źródłem materiału przeszczepowego były

syngeniczne PBSC. Stosowano następujące schematy chemioterapii: ICE (ifosfamid + karboplatyna + etopozyd; N=40), CEP (cyklofosfamid + etopozyd + cisplatyna; N=35), DHAP (deksametazon + cytarabina + cisplatyna; N=6), PaCy (paklitaksel + cyklofosfamid; N=5), ESHAP (etopozyd + cytarabina + metylprednisolon + cisplatyna; N=4), Cy (cyklofosfamid; N=1), metotreksat + cytarabina (N=1). W celu zebrania niezbędnej liczby komórek CD34+ przeprowadzono od 1 do 10 cytaferez (mediana 3).

Wybór schematu kondycjonowania należał do lekarza prowadzącego. HDC według schematu BuMeITT otrzymało 58 chorych (54%), a BEAM – 49 chorych (46%). Zgodnie z założeniem, w grupie leczonej BEAM udział chorych w wieku ponad 65 lat był wyższy ( $p < 0,001$ ), natomiast udział chorych obciążonych dodatkowo chorobami internistycznymi, takimi jak cukrzyca, nadciśnienie tętnicze, zapalenie wątroby, czy zapalenie trzustki, był w obu grupach podobny (3%). Podobny był także udział chorych z niewydolnością krążenia wyrażoną frakcją wyrzutową lewej komory serca ( $EF < 50\%$ ), który wynosił w obu grupach odpowiednio 10 i 9%. Udział chorych z niskim, pośrednim i wysokim stopniem złośliwości był podobny, natomiast udział poszczególnych podtypów histologicznych był różny. W grupie leczonej schematem BEAM więcej było chorych w gorszym stanie ogólnym (55% w porównaniu do 33% ze stopniem sprawności ECOG  $> 1$ ;  $p < 0,001$ ), wyższym stopniem zaawansowania nowotworu (88% w porównaniu do 61% z III i IV stopniem;  $p < 0,001$ ), wskaźnikiem IPI/FLIPI (65% w porównaniu do 19% ze wskaźnikiem  $\geq 3$ ;  $p < 0,0001$ ), zajęciem więcej niż jednej okolicy pozawęzłowej (51% w porównaniu do 34%;  $p = 0,01$ ). W obu grupach podobne było także zaawansowanie choroby w chwili podjęcia HDC/PBSCT, czas od rozpoznania do rozpoczęcia HDC/PBSCT oraz liczba schematów i cykli chemioterapii w okresie przed przeszczepieniem. Grupy różniły się znamienne pod względem udziału chorych poddanych miejscowemu napromienianiu (34% w grupie leczonej BuMeITT w porównaniu do 15% w grupie leczonej BEAM;  $p = 0,01$ ), oraz zastosowania rituksymabu (88% w grupie BEAM i 53% w grupie BuMeITT;  $p < 0,001$ ). Leczenie po HDC/HCT było w obu grupach podobne. Jako profilaktykę nawrotu w ośrodkowym układzie nerwowym 8 chorych otrzymało dooponowo osiem iniekcji metotrexatu w dawce  $12 \text{ mg/m}^2$ . Jeden chory otrzymał profilaktyczne napromienianie jąder, a napromienianie zmian resztkowych zastosowano u 4. Po uzyskaniu przyjęcia przeszczepu u 12 chorych zastosowano podtrzymujące leczenie interleukiną-2 (Il-2) w dawce 3 MU podskórnie/dobę od +24 do +58 dnia. U 19 chorych z dodatnią ekspresją CD20 i brakiem CR zastosowano rituksymab (dożylnie w dawkach standardowych  $375 \text{ mg/m}^2$  raz w tygodniu po uprzedniej premedykacji, zgodnie z ogólnie przyjętymi zaleceniami). Szczegółową charakterystykę chorych w obu grupach przedstawia tabela 1.

Tabela 1. Charakterystyka kliniczna chorych na chłoniaki złośliwe leczonych schematami BuMeITT i BEAM

Table 1. Clinical characteristics of lymphoma patients treated with BuMeITT

Cecha / Characteristic	BEAM (N=49) n (%)	BuMeITT (N=58) n (%)	p <sup>a</sup>
Wiek (lata) / Age (years) w chwili HDC / PBSCT			
Zakres / Range	35–72	35–65	<0,001 <sup>b</sup>
Mediana / Median	62	51	
Płeć / Sex			
Kobiety / Women	20 (41)	29 (50)	ns
Mężczyźni / Men	29 (59)	29 (50)	
Stopień sprawności / Performance Status			
0 – 1	22 (45)	39 (67)	0,001
>1	27 (55)	19 (33)	
Postać histologiczna w chwili nawrotu / Histology at relapse			
FL	5 (10)	11 (19)	<0,02
DLBCL	26 (53)	36 (62)	
MCL	9 (18)	3 (5)	
T cell rich B cell	3 (6)	4 (7)	
Anaplastyczny / Anaplastic	1 (2)	1 (2)	
NK	0	1 (2)	
MZL	1 (2)	0	
Angioimmunoblastyczny / Angioimmunoblastic	2 (4)	1 (2)	
Limfoblastyczny / Lymphoblastic	1 (2)	0	
T komórkowy / Tcell	1 (2)	1 (2)	
Stopień złośliwości / Grade			
Niski / Low	4 (8)	10 (17)	ns
Pośredni / Intermediate	41 (84)	40 (69)	
Wysoki / High	4 (8)	8 (14)	
Stopień zaawansowania / Stage			
I, II	7 (14)	22 (38)	<0,001
III, IV	42 (86)	36 (62)	
IPI (FLIPI)			
0, 1	5 (10)	35 (60)	<0,0001
2	13 (27)	12 (21)	
≥3	31 (65)	11 (19)	
Cecha “bulky” (≥10 cm) w chwili nawrotu / Bulky disease			
	9 (18,4)	14 (24)	ns



<b>Cecha / Characteristic</b>	<b>BEAM (N=49) n (%)</b>	<b>BuMeIT (N=58) n (%)</b>	<b>p<sup>a</sup></b>
<i>Liczba zajętych okolic pozawęzłowych / Number of involved extranodal regions</i>			
0 – 1	24 (49)	38 (65)	0,01
>1	25 (51)	20 (34)	
<i>Zajęcie szpiku / Bone marrow involvement</i>			
W chwili rozpoznania / <i>at diagnosis</i>	17 (34)	15 (26)	ns
W chwili nawrotu / <i>at relapse</i>	10 (20)	15 (26)	
<i>LDH &gt; normy / Elevated LDH</i>			
W chwili rozpoznania / <i>at diagnosis</i>	21 (43)	34 (59)	0,01
W chwili nawrotu / <i>at relapse</i>	25 (51)	25 (43)	
<i>Stadium choroby / Stage</i>			
1. CR / CR	2 (4)	1 (2)	ns
1. chemiowrażliwy nawrót / <i>1. chemosensitive relapse</i>	23 (47)	27 (46)	
>1. chemiowrażliwy nawrót / <i>&gt;1. chemosensitive relapse</i>	4 (8)	8 (14)	
Oporność na leczenie / <i>Refractory disease</i>	20 (41)	22 (38)	

<sup>a</sup>wynik testu chi-kwadrat, <sup>b</sup>wynik testu Mann-Whitney'a

Ocenę tolerancji i skuteczności leczenia tandemowego z udziałem TMI przeprowadzono w grupie 57 chorych, w tym 10 dzieci w wieku 3-16 lat (mediana 13 lat) – tabela 2. Mediana czasu od rozpoznania choroby nowotworowej do leczenia tandemowego wynosiła 25 miesięcy (zakres 5-124 miesiące).

U 14 chorych (24,5%) stwierdzono pierwotną chemiooporność, a u 36 (63%) – kolejny nawrót po wyczerpaniu innych możliwości leczenia. Piętnastu chorych (26%) przebyło napromienianie obejmujące śródpiersie i/lub fragment płuca w czasie od 1 do 80 miesięcy (mediana 18,5 miesiąca) przed leczeniem tandemowym. Pięciu chorych otrzymało napromienianie miejscowe okolicy wznowy na 1 do 16 dni przed TMI.

Tabela 2. Charakterystyka kliniczna chorych poddanych leczeniu tandemowemu z udziałem TMI

Table 2. Clinical characteristics of patients treated with TMI and tandem transplants

<b>Cecha / Characteristics</b>	<b>Liczba chorych Number of patients (N=57)</b>
<b>Rozpoznanie / Diagnosis</b>	
Szpiczak mnogi / <i>Multiple myeloma</i>	21
Stopień 2. wg Salmona-Durie	3
Stopień 3. wg Salmona-Durie	18
Rak piersi / <i>Breast cancer</i>	24
Receptor steroidowy (+) / <i>ER (+)</i>	19
Receptor steroidowy (-) / <i>ER (-)</i>	4
Receptor steroidowy nieznan / <i>ER UK</i>	1
Mięsaki / <i>Sarcoma</i>	10
Chłoniaki / <i>Lymphoma</i>	2
<b>Wiek (lata) / Age (years)</b>	
Mediana / <i>Median</i>	45
Zakres / <i>Range</i>	3-65
<b>Płeć / Gender</b>	
Kobiety / <i>Women</i>	34
Mężczyźni / <i>Men</i>	23
<b>Czas od rozpoznania do leczenia (miesiące) / Time from diagnosis (months)</b>	
<12	10
≥12	47
<b>Przebyte miejscowe napromienianie / History of local radiotherapy</b>	
Sródpiersia lub płuc / <i>Mediastinum or lungs</i>	15
Kości (paliatywne) / <i>Bone (palliative)</i>	14
<b>Przebyta chemioterapia / History of chemotherapy</b>	
Liczba schematów / <i>Number of regimens</i>	
Mediana / <i>Median</i>	2
Zakres / <i>Range</i>	1-8
Liczba cykli / <i>Number of cycles</i>	
Mediana / <i>Median</i>	8
Zakres / <i>Range</i>	1-25
<b>Odpowiedź na pierwsze leczenie/ Response to the first treatment</b>	
CR	11
PR	32
SD	14
<b>Czas pomiędzy przeszczepieniami (dni) / Time between tandem transplants (days)</b>	
Mediana / <i>Median</i>	105
Zakres / <i>Range</i>	63-162

Leczenie zgodne z protokołem przeprowadzono u 53 spośród 57 chorych (93%). W tej grupie 27 otrzymało dawkę 12 Gy, 12 – 13,5 Gy i 18 – 15 Gy (tabela 3). Z powodu obecności obustronnych przerzutów 3 chorych otrzymało 50% zamiast 10% dawki na całe płuca. Jeden chory z powodu odmowy otrzymał dawkę 10,5 Gy zamiast planowanej 12 Gy. U żadnego z ww. 4 chorych leczonych niezgodnie z protokołem nie stwierdzono powikłań w 3. lub 4. stopniu nasilenia po pełnym leczeniu tandemowym, jednak wyłączono ich z analizy hematologicznych i niehematologicznych objawów niepożądanych. Skuteczność leczenia oceniono u 56 spośród 57 chorych, ponieważ podczas powtórnej analizy danych w jednym przypadku dopatrzono się przetrwałej po pierwszym przeszczepieniu zmiany przerzutowej o średnicy 1 cm w wątrobie, co było kryterium wykluczającym z badania.

Tabela 3. Podział chorych według rozpoznania i dawki TMI

Table 3. Patient diagnoses at different TMI dose levels

Rozpoznanie <i>Diagnosis</i>	Liczba chorych / <i>Number of patients</i>			
	Dawka / <i>Dose</i>			Razem / <i>All</i> (N=57)
	12 Gy (N=27)	13,5 Gy (N=12)	15 Gy (N=18)	
Szpiczak mnogi / <i>Multiple myeloma</i>	7	5	9	21
Rak piersi / <i>Breast cancer</i>	12	5	7	24
Mięsak / <i>Sarcoma</i>	6	2	2	10
Ewinga	5	1	1	7
PNET	1	0	1	2
RMS	0	1	0	1
Chłoniak / <i>Lymphoma</i>	2	0	0	2

Większość chorych (96,5%) otrzymała autologiczne PBSC zebrane po mobilizacji rhG-CSF w dawce 10–32 µg/kg/dobę (N=5), mobilizacji chemioterapią i rhG-CSF (N=48), lub chemioterapią i rhGM-CSF (N=2). Stosowano następujące schematy chemioterapii: PaCy (paklitaksel 130–250 mg/m<sup>2</sup> + cyklofosfamid 4 g/m<sup>2</sup>; N=25), CE (cyklofosfamid 4 g/m<sup>2</sup> + etopozyd 400–600 mg/m<sup>2</sup>; N=13), CEP (cyklofosfamid 4 g/m<sup>2</sup> + etopozyd 400–600 mg/m<sup>2</sup> + cisplatyna 100 mg/m<sup>2</sup>; N=4), IE (ifosfamid 8 g/m<sup>2</sup> + etopozyd 300–600 mg/m<sup>2</sup>; N=4), ICE (ifosfamid 8 g/m<sup>2</sup> + karboplatyna 400 mg/m<sup>2</sup> + etopozyd 500 mg/m<sup>2</sup>; N=2), Cy (cyklofosfamid 4 g/m<sup>2</sup>; N=1), Pa (paklitaksel 250 mg/m<sup>2</sup>; N=1). W dwóch przypadkach wykorzystano syngeniczne PBSC. W celu zebrania niezbędnej liczby komórek CD34+ przeprowadzono od 1 do 9 cytaferez (mediana 3).

Dla każdego chorego na podstawie wywiadu oraz dokumentacji medycznej oszacowano wskaźnik obciążających chorób towarzyszących. W tej ocenie posłużono się punktową skalą opracowaną specjalnie dla chorych po HCT (tabela 4), na podstawie obserwacji 1055 chorych leczonych w latach 1997–2003 w FHCRC z udziałem przeszczepiania allogenicznych komórek krwiotwórczych (*hematopoietic*

*cell transplantation-specific comorbidity index* – HCT-CI) [151]. Skala ta różni się wprawdzie od najczęściej dotychczas stosowanej skali Charlson (*Charlson Comorbidity Index* – CCI) [145, 146], jednak u chorych po alloprzeszczepieniach okazała się wartościowym wskaźnikiem ryzyka zgonu z powodu innego niż choroba zasadnicza.

Tabela 4. Zasady obliczania wskaźnika chorób współwystępujących według punktowej skali HCT-CI

Table 4. Comorbidity index scoring rules (HCT-CI)

<b>Choroba współwystępująca Comorbidity</b>	<b>Definicja / Definition</b>	<b>Skala HCT-CI HCT-CI score</b>
Niemiarowość serca <i>Cardiac arrhythmia</i>	Trzepotanie i migotanie przedsionków, zespół chorej zatoki, niemiarowości komorowe	1
Choroby serca <i>Heart diseases</i>	Choroba wieńcowa, niewydolność krążenia, zawał mięśnia serca, EF $\leq 50\%$	1
Przewlekłe choroby zapalne jelit <i>Chronic inflammatory bowel diseases</i>	Choroba Crohna, wrzodziejące zapalenie jelita grubego	1
Cukrzyca / <i>Diabetes</i>	Wymagająca leczenia	1
Choroby naczyniowe mózgu <i>Vascular cerebral disorders</i>	Wylew, przemijające niedokrwienie mózgu	1
Choroby psychiczne <i>Psychiatric diseases</i>	Depresja lub zespoły lękowe wymagające leczenia	1
Łagodne choroby wątroby <i>Benign liver diseases</i>	Przewlekłe zapalenie wątroby, bilirubina $\leq 1,5 \times \text{ULN}^{\dagger}$ , AST/ALT $\leq 2,5 \times \text{ULN}^{\dagger}$	1
Otyłość / <i>Obesity</i>	BMI <sup>¶</sup> $> 35 \text{ kg/m}^2$	1
Zakażenia / <i>Infections</i>	Wymagające kontynuacji leczenia po przeszczepieniu	1
Choroby reumatyczne <i>Rheumatic diseases</i>	SLE <sup>*</sup> , RA <sup>†</sup> , zapalenie wielomięśniowe, ból wielomięśniowy, CTD <sup>‡</sup>	2
Choroba wrzodowa <i>Peptic ulcer</i>	Czynna	2
Umiarkowane/ciężkie choroby nerek <i>Moderate/severe renal diseases</i>	Kreatynina $>2 \text{ mg/dL}$ , biorca nerki, w trakcie dializoterapii	2

<b>Choroba współwystępująca Comorbidity</b>	<b>Definicja / Definition</b>	<b>Skala HCT-CI HCT-CI score</b>
Umiarkowane choroby płuc <i>Moderate pulmonary diseases</i>	DL <sub>CO</sub> i/lub FEV <sub>1</sub> 66-80%, duszność wysiłkowa	2
Nowotwory / <i>Neoplasms</i>	Z wyjątkiem raka skóry	3
Wady serca wrodzone i nabyte <i>Congenital and accuired heart conditions</i>	Z wyjątkiem wypadania płotka zastawki mitralnej	3
Ciężkie choroby płuc <i>Severe pulmonary diseases</i>	DL <sub>CO</sub> i/lub FEV <sub>1</sub> ≤65%, duszność spoczynkowa	3
Umiarkowane i ciężkie choroby wątroby <i>Moderate/severe liver diseases</i>	Marskość wątroby, bilirubina >1,5 X ULN <sup>n</sup> , AST/ALT >2,5 x ULN <sup>n</sup>	3

<sup>n</sup> ULN – górny zakres normy, <sup>¶</sup> BMI – wskaźnik masy ciała, <sup>\*</sup> SLE – toczeń układowy,  
<sup>†</sup> RA – reumatoidalne zapalenie stawów, <sup>‡</sup> CTD – choroba układowa tkanki łącznej

Zależność pomiędzy HCT-CI a ryzykiem zgonu z przyczyn innych niż choroba zasadnicza (NRM) oceniono na podstawie analizy jednoczynnikowej i wieloczynnikowej. W analizie tej uwzględniono także wiek, LVEF, DL<sub>CO</sub>, rodzaj i nasilenie choroby zasadniczej, rodzaj kondycjonowania, przebyte przed transplantacją napromienianie śródpiersia, jamy brzusznej i/lub >25% objętości szpiku kostnego w całej badanej grupie. Z analizy wyłączono chorych w wieku <19 lat, ze względu na małą liczebność tej grupy (N=11), duży zakres wieku (3 do 18 lat) oraz brak chorób obciążających. Grupę badaną stanowiło więc 153 chorych w wieku 21-72 lat (mediana 53), wśród których było 79 kobiet i 74 mężczyzn. Najczęstszymi chorobami współistniejącymi z nowotworami były choroby serca (zaburzenia rytmu, przebyty zawał mięśnia serca, wady zastawkowe) – 27 chorych (16%), choroby układu oddechowego (astma, gruźlica, sarkoidoza, azbestoza) – 16 chorych (10%), nadciśnienie tętnicze – 15 chorych (9%) i łagodne/umiarkowane schorzenia wątroby (w związku z przebytym lub współistniejącym zapaleniem wątroby, poalkoholowe, zespół Gilberta) – 11 chorych (7%). Pięciu chorych (3%) wcześniej leczono z powodu innych nowotworów (raka gruczołu krokowego w stadium T1bN0M0, raka neuroendokrynnego trzustki, ziarnicy złośliwej IIIA, raka płuca T1N0, raka piersi T2N0). Otyłość stwierdzono u 7 chorych (4%). Inne choroby, takie jak przewlekłe zapalenie jelit, choroba wrzodowa żołądka, reumatoidalne zapalenie stawów, choroby psychiczne, zaburzenia krążenia mózgowego, występowały z częstością <2%.

## 4. METODY

### 4.1. Mobilizacja i zbiórka obwodowych komórek macierzystych szpiku i źródło materiału przeszczepowego

Mobilizację, zbiórkę, przechowywanie i przetaczanie komórek przeprowadzano według standardów obowiązujących w FHCRC [152, 153]. Mobilizowano własne PBSC chorych, stosując rhG-SCF w dawkach 10-32  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dobę}$ , chemioterapię lub obie te metody łącznie. Od 3. dnia w przypadku mobilizacji G-CSF i w 10-18 dni po chemioterapii rozpoczynano kolekcjonowanie komórek, starając się zebrać  $5 \times 10^6$  komórek CD34+/kg. Dopuszczalne było przeszczepianie syngenicznych PBSC od haploidentycznych dawców mobilizowanych rhG-CSF. Zawartość poszczególnych frakcji komórkowych w pobranym materiale oceniano przy użyciu sortera komórkowego (FACS) po znakowaniu fluoresceiną lub fikoerytryną przeciwciał monoklonalnych przeciwko CD34, CD14 i IgG<sub>1</sub>.

### 4.2. Leczenie wspomagające

Ze względu na wysokie ryzyko powikłań ze strony ośrodkowego układu nerwowego, podczas podawania busulfanu wszyscy chorzy leczeni schematem BuMeTT otrzymywali profilaktycznie fenytoinę, zaczynając 24 godziny przed pierwszą dawką busulfanu i kończąc 24 godziny po ostatniej dawce. Wszyscy chorzy, niezależnie od schematu kondycjonowania, w okresie neutropenii otrzymywali profilaktycznie antybiotyki o szerokim spektrum. Po stwierdzeniu przyjęcia przeszczepu chorzy otrzymywali doustnie trimetoprim + sulfametoksazol w dawce 2 x 960 mg/dobę dwa razy w tygodniu do dnia +120 i flukonazol w dawce 200 mg/dobę do dnia +75. U chorych serododatnich dla wirusa *Herpes simplex* stosowano dodatkowo acyclovir – 1600 mg/dobę w dwóch dawkach podzielonych do +30 dnia lub do całkowitego wygojenia zmian zapalnych w obrębie błon śluzowych [154]. Rutynowo raz w tygodniu oznaczano antygenemię CMV pp65, a w razie dodatniego wyniku podawano gancyclovir [155,156]. Czynniki wzrostu stosowano tylko w przypadku przedłużającej się neutropenii lub potwierdzonego zakażenia. Masę płytkową przetaczano do momentu uzyskania wartości płytek  $>20 \times 10^9 /\text{L}$  przez 3 kolejne dni bez przetaczania. Chorym z niedokrwistością przetaczano masę erytrocytarną do osiągnięcia stężenia Hb  $>9 \text{ mg}/\text{dL}$ . Wszyscy chorzy otrzymywali profilaktycznie leki przeciwwymiotne, przeciwbólowe oraz środki odkażające do pielęgnacji jamy ustnej. Niezależnie od tego, u chorych z przewlekłymi schorzeniami internistycznymi kontynuowano podawanie wcześniej stosowanych leków.

### 4.3. Ocena toksyczności zależnej od schematu leczenia (RRT)

Jako toksyczność zależną od schematu leczenia określono wszystkie objawy niepożądane związane z HDC, z wyjątkiem zakażeń oraz powikłań krwotocznych. W ocenie powikłań niehematologicznych stosowano skalę Bearmana [157]. Oceniano objawy niepożądane dotyczące skóry (tabela 5), błon śluzowych, przewodu pokarmowego, płuc, serca, wątroby, nerek, układu moczowego i ośrodkowego układu nerwowego. Ocenę przeprowadzano w dniach 0, +7, +14, +28, i +100 po przeszczepieniu (tabela 6). Jako toksyczność IV stopnia traktowano zgon, który nastąpił przed +28 dobą. W 1. miesiącu po wypisaniu ze szpitala wizyty kontrolne odbywały się raz w tygodniu, w 2. i 3. miesiącu – co 2 tygodnie, od 6. do 12. miesiąca – raz w miesiącu, w 2. roku – co 3 miesiące, a później – co 6 miesięcy.

Późne objawy niepożądane, które wystąpiły później niż 100 dni po transplantacji oceniano według skali NCI-CTC, wersja 3.0. Dla oceny wydolności układu oddechowego stosowano kryteria Chien i wsp [158].

Tabela 5. Ocena nasilenia stopnia reakcji skórnej

Table 5. Skin toxicity assessment

Skala / Scale	Nasilenie reakcji / Reaction intensity
0	brak reakcji
1	rumień lub wysypka grudkowa zajmująca $\leq 50\%$ powierzchni skóry
2	rumień lub wysypka grudkowa zajmująca $> 50\%$ powierzchni skóry
3	zmiany pęcherzowe zajmujące $\leq 10\%$ powierzchni skóry
4	zmiany pęcherzowe zajmujące $> 10\%$ powierzchni skóry

Tabela 6. Pozahematologiczne RRT według skali Bearmana.

Table 6. Bearman's scale for non-hematologic regimen-related toxicities.

Narząd Organ	Stopień 1 / Grade 1	Stopień 2 / Grade 2	Stopień 3 / Grade 3
Błony śluzowe <i>Mucous membranes</i>	Ból i owrzodzenia nie wymagające dożylnego podawania narkotycznych środków przeciwbólowych	Ból i owrzodzenia wymagające dożylnego podawania narkotycznych środków przeciwbólowych	Ból i ciężkie owrzodzenia wymagające żywienia przez sondę, lub będące powodem aspiracyjnego zapalenia płuc
Przewód pokarmowy <i>Gastrointes tinal</i>	Wodnista biegunka 500–2000 mL/dobę	Wodnista biegunka $>2000$ mL/dobę, krwista, lub podniedrożność	Niedrożność lub krwotoczne zapalenie jelit wymagające przetoczenia krwi

<b>Narząd Organ</b>	<b>Stopień 1 / Grade 1</b>	<b>Stopień 2 / Grade 2</b>	<b>Stopień 3 / Grade 3</b>
Płuca <i>Lungs</i>	Duszność bez zmian w rtg płuc lub zmiany śródmiąższowe lub izolowany naciek bez objawów	Masywne zmiany w obrazie radiologicznym z dusznością, nie wymagające mechanicznej wentylacji	Zaburzenia wymagające mechanicznej wentylacji lub podawania mieszanki zawierającej >50% tlenu przez maskę tlenową
Serce <i>Heart</i>	Zaburzenia w EKG nie wymagające leczenia, powiększenie sylwetki serca bez wpływu na hemodynamikę	Zaburzenia w EKG lub rozstrzeniowa niewydolność serca wymagająca i odpowiadająca na leczenie farmakologiczne	Ciężkie zaburzenia w EKG lub ciężka niewydolność krążeniowa słabo reagująca na leczenie farmakologiczne
Wątroba <i>Liver</i>	Łagodne zaburzenia: bilirubina 2–6 mg/dL, SGOT 2–5 x norma, przyrost masy ciała 2,5–5% w stosunku do masy wyjściowej	Średnio ciężkie zaburzenia: bilirubina 6–20 mg/dL, SGOT $\geq 5$ x norma, przyrost masy ciała $\geq 5\%$ w stosunku do masy wyjściowej, wodobrzusze >100 mL	Ciężkie uszkodzenie: bilirubina $\geq 20$ mg/dL, encefalopatia wątrobowa, wodobrzusze powodujące duszność
Nerki <i>Kidneys</i>	Wzrost stężenia kreatyniny $\leq 2$ x stężenia sprzed leczenia	Wzrost stężenia kreatyniny >2 x stężenia sprzed leczenia, bez wskazań do dializy	Konieczność dializoterapii
Pęcherz moczowy <i>Bladder</i>	Bezobjawowy makroskopowy krwimocz min. 2 dni po ostatniej dawce cytostatyków	Objawowy makroskopowy krwimocz min. 2 dni po ostatniej dawce cytostatyków, lub bezobjawowy makroskopowy krwimocz min. 7 dni po ostatniej dawce cytostatyków	Krwotoczne zapalenie pęcherza wymagające leczenia inwazyjnego
OUN* CNS*	Senność bez zaburzeń orientacji	Senność z zaburzeniami orientacji	Drgawki, śpiączka

\*OUN – ośrodkowy układ nerwowy / *central nervous system*



#### 4.4. Ocena odpowiedzi na leczenie

Odpowiedź na leczenie oceniano według kryteriów WHO [159].

U chorych na nowotwory lite CR definiowano jako całkowite ustąpienie wszystkich zmian nowotworowych trwające co najmniej 4 tygodnie. PR definiowano jako zmniejszenie się o  $\geq 50\%$  sumy wymiarów zmian mierzalnych obecnych przed leczeniem, bez pojawienia się nowych zmian. Stabilizację (SD) definiowano jako zmniejszenie się o  $< 50\%$  lub zwiększenie o  $< 25\%$  sumy wymiarów zmian mierzalnych obecnych przed leczeniem, bez pojawienia się nowych ognisk. Progresję (PD) definiowano jako zwiększenie się sumy wymiarów zmian mierzalnych obecnych przed leczeniem o  $\geq 25\%$  lub pojawienie się nowych zmian.

Odpowiedź na leczenie wykonywano na podstawie badań diagnostycznych wykonywanych w pierwszym roku po przeszczepieniu co 2 miesiące, w drugim roku – co 3 miesiące i później – co 6 miesięcy.

U chorych na szpiczaka mnogiego odpowiedź na leczenie oceniano według następujących kryteriów [160]:

- CR – całkowity brak białka monoklonalnego lub białka Bence-Jones w surowicy oraz  $\leq 5\%$  komórek plazmatycznych w szpiku;
- PR – zmniejszenie o  $\geq 50\%$  stężenia białka monoklonalnego i/lub o  $\geq 90\%$  białka Bence-Jones;
- SD – zwiększenie o  $< 25\%$  lub zmniejszenie o  $< 50\%$  stężenia białka monoklonalnego i/lub o  $< 90\%$  białka Bence-Jones;
- PD – podwyższenie o  $\geq 25\%$  stężenia białka monoklonalnego lub Bence-Jones w surowicy.

W przypadku szpiczaka mnogiego odpowiedź na leczenie oceniano na podstawie MRI kośćca, badania szpiku i markerów biochemicznych po 2, 9 i 12 miesiącach od transplantacji [161,162]. Po roku dodatkowo wykonywano badanie rtg kości. Ze względu na duże trudności w określeniu CR i PR w oniesieniu do zmian kostnych, w ocenie efektu leczenia przede wszystkim zwracano uwagę na progresję dotychczasowych i/lub pojawienie się nowych ognisk. Stwierdzenie CR wymagało powtarzania badań diagnostycznych co 2 miesiące w pierwszym, co 3 miesiące w drugim roku po leczeniu i co 6 miesięcy w następnych latach.

#### 4.5. Schematy kondycjonowania BuMeITT i BEAM u chorych na chłoniaki złośliwe

Schematy wysokodawkowej chemioterapii przedstawiono szczegółowo w tab. 7.

Tabela 7. Schematy wysokodawkowej chemioterapii – BuMeITT i BEAM  
*Table 7. BuMeITT and BEAM regimens*

<b>BEAM</b>
Karmustyna 150 mg/m <sup>2</sup> iv w dniach -6 do -5 (w 60 min wlewie)
Etopozyd 100 mg/m <sup>2</sup> iv 2 x dobę w dniach -5 do -2 (w 120 min wlewie)
Cytarabina 200 mg/m <sup>2</sup> iv 2 x dobę w dniach -5 do -2 (w 60 min wlewie)
Melfalan 140 mg/m <sup>2</sup> iv w dniu -2 (w 120 min wlewie)
<b>BuMeITT</b>
Busulfan 1 mg/kg/dawkę p.o. co 6 h w dniach -8 do -6
Melfalan 50 mg/m <sup>2</sup> iv w dniach -5 do -4 (w 120 min wlewie)
Tiotepa 250 mg/m <sup>2</sup> iv w dniach -3 do -2 (w 120 min wlewie)
<b>Dzień 0 – wlew HSC</b>

#### **4.6. TMI w leczeniu tandemowym chorych na zaawansowane nowotwory lite z przerzutami do kości lub szpiku**

Do badania kwalifikowano chorych z przerzutami do kości lub szpiku w przebiegu zaawansowanych nowotworów, którzy po uzyskaniu wyczerpujących informacji na temat terapii i jej powikłań wyrazili zgodę na tandemowe leczenie mieloablacyjne. Warunkiem włączenia do badania była liczba zebranych komórek krwiotwórczych umożliwiająca bezpieczne przeprowadzenie dwóch transplantacji w odstępie 60-120 dni.

##### **4.6.1. Pierwsze leczenie mieloablacyjne z zastosowaniem chemioterapii**

Wszyscy chorzy kwalifikowani byli do chemioterapii według schematu BuMeITT (busulfan 12 mg/kg doustnie w dawkach podzielonych co 6 godzin w dniach -8 do -6 + melfalan 100 mg/m<sup>2</sup> dożylnie w dwóch dawkach podzielonych w dniach -5 i -4 + tiotepa 450-500 mg/m<sup>2</sup> dożylnie w dwóch dawkach podzielonych w dniach -3 i -2). Z powodu stwierdzonej wcześniej nietolerancji melfalanu, jeden chory otrzymał leczenie według schematu BuCY (busulfan 14 mg/kg doustnie w dawkach podzielonych co 6 godzin w dniach -8 do -5 + cyklofosfamid 150 mg/kg dożylnie w trzech dawkach podzielonych w dniach -4 do -2), a 3 (5,3%) otrzymało leczenie według schematu BuTT (busulfan 14 mg/kg doustnie w dawkach podzielonych co 6 godzin w dniach -7 do -4 + tiotepa 500 mg/m<sup>2</sup> dożylnie w dwóch dawkach podzielonych w dniach -3 i -2).

##### **4.6.2. Drugie leczenie mieloablacyjne z udziałem TMI**

Chorzy, u których po pierwszym leczeniu HDC/PBSCT możliwe było kontynuowanie leczenia, otrzymywali napromienianie całego układu kostnego. Stosowano hiperfrakcjonowanie – dwie dawki frakcyjne (D<sub>f</sub>) 1,5 Gy dziennie oddzielone sześciogodzinną przerwą, do dawki całkowitej 12 Gy. Przy dobrej tolerancji leczenia dawkę całkowitą podwyższano do 13,5 Gy w 9 frakcjach, 15

Gy w 10 frakcjach itd., a przy złej – zmniejszono o jedną dawkę frakcyjną. Po 24 godzinach od ostatniej frakcji przetaczano autologiczne lub syngeniczne PBSC. W razie potrzeby stosowano dodatkowe napromienianie okolic masywnie zajętych przez nowotwór. Czynniki wzrostu podawano jedynie w przypadku przedłużającej się neutropenii lub stwierdzenia zakażenia.

#### 4.6.3. Technika TMI

W napromienianiu całego układu kostnego i szpiku stosowano zmodyfikowaną technikę TBI przy zachowaniu następujących warunków:

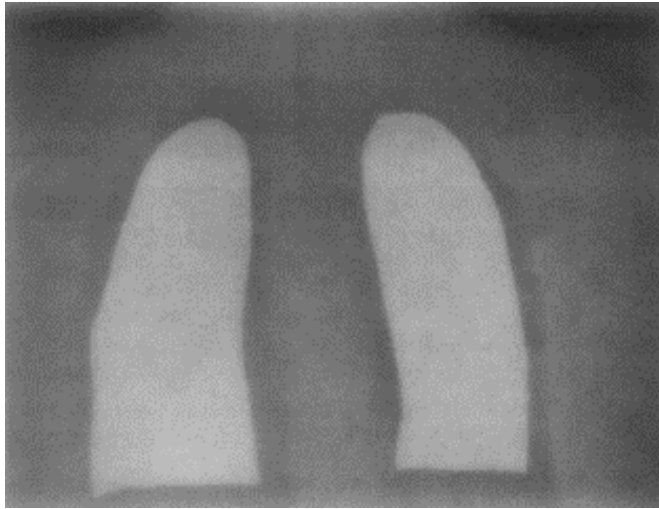
- Przyspieszacz liniowy SL20B o energii fotonów 6 MeV.
- Izocentrum w odległości 5,5 m od jednej ze ścian bunkra.
- Maksymalna odległość 6,5 m pomiędzy źródłem wirtualnym a ścianą.
- Przy maksymalnej wielkości pola w izocentrum 0,4 x 0,4 m, wielkość pola przy zastosowaniu poziomej wiązki 2,0 x 2,0 m w odległości 5 m.
- Pozycja stojąca chorego z rękoma opuszczonymi wzdłuż ciała, w białiznie.
- Napromienianie z zastosowaniem stojaka wyposażonego w siodełko żelowe o regulowanej wysokości, służące do podtrzymywania chorego (ryc. 1).
- Kąt gantry (5°) umożliwiający uzyskanie należynej dawki w obszarze stóp chorego stojącego na podeście na wysokości minimum 7,6 cm ponad podłogą.
- Moc dawki 300 cGy/min w odległości 1 m od izocentrum i 12 cGy/min w odległości 5 m.
- Dwa pola naprzeciwnie AP (z ustawieniem chorego twarzą do źródła) oraz PA (z chorym stojącym plecami do źródła).
- Ekran polikarbonowy o grubości zależnej od wymiaru AP danego obszaru ciała (innej dla okolicy szyi, czy kostek kończyn dolnych) pomiędzy źródłem a chorym w celu zmniejszenia efektu *build-up*.
- Indywidualne osłony 3,5 HVL (wykonane z Cerrobendu), które mocowano na stojaku, w celu maksymalnego obniżenia dawki na płuca i wątrobę.
- Osłony wykonywane na podstawie skanów tomokomputerowych, w przypadku płuc zawsze z uwzględnieniem ruchomości oddechowej oraz osłabiającego efektu serca i przepony. Obrysowywanie na skanach konturu płuc a następnie generowanie wtórnego, mniejszego konturu położonego 8 mm do wewnątrz od pierwszego.
- Zastosowanie kompensatora osłabiającego dawkę o 50% w obwodowej 8–10 mm warstwie płuc.

- Sprawdzanie położenia kompensatorów na podstawie zdjęć symulacyjnych przy użyciu ruchomego aparatu rentgenowskiego (ryc. 2)
- Napromienianie elektronowe szpiku kostnego i kości znajdujących się pod indywidualnymi osłonami dla płuc i wątroby (promieniowanie elektronowe o energii uwarunkowanej grubością ściany klatki piersiowej i dobranej na podstawie skanów TK tak, aby izodoza 80%, dla której zadawano dawkę, obejmowała wszystkie struktury kostne.)
- Plan leczenia, w którym nie więcej niż 30% objętości płuc i nie więcej niż 35% objętości wątroby objęte było dawką  $\geq 80\%$  dawki całkowitej.



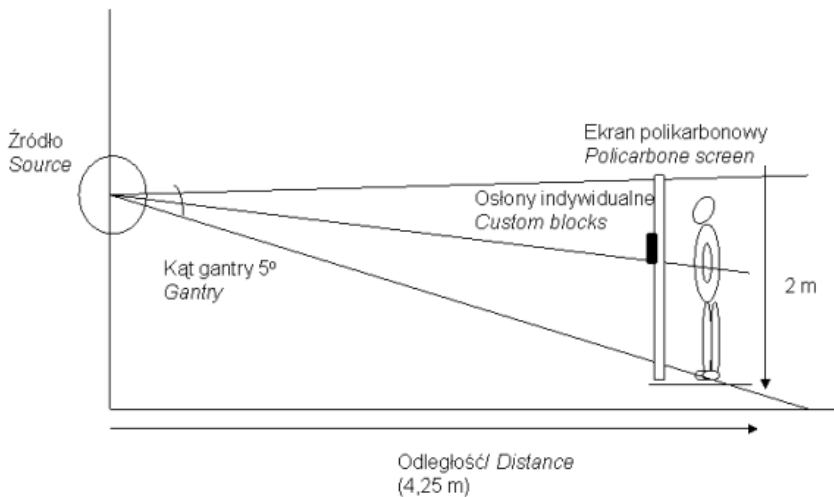
Ryc. 1. Stojak do pozycjonowania chorych, wyposażony w siodełko żelowe, ekran polikarbonowy, oraz ramy do montowania kompensatorów (Radiation Product Design, Inc., Arbertsville, MN, USA)

*Fig. 1. TBI stand equipped with jelly seat, polycarbonate scatter screen, and compensator jackets (Radiation Product Design, Inc., Arbertsville, MN, USA)*



Ryc. 2. Zdjęcie weryfikacyjne położenia osłon płucnych.

Fig. 2. Portal film verifying lung blocks position



Ryc. 3. Schemat przedstawiający pozycjonowanie chorego w bunkrze terapeutycznym

Fig. 3. Patient positioning in the treatment room

#### 4.6.4. Dozymetria

1. Dawki zmierzone podczas pierwszej frakcji wykorzystywano podczas kolejnych frakcji do modyfikacji liczby jednostek monitorowych oraz grubości osłon dla płuc i wątroby.
2. Pomiary podczas pierwszej frakcji wykonywano zawsze z użyciem dwóch metod: termoluminescencyjnej (TLD pod bolusem o grubości

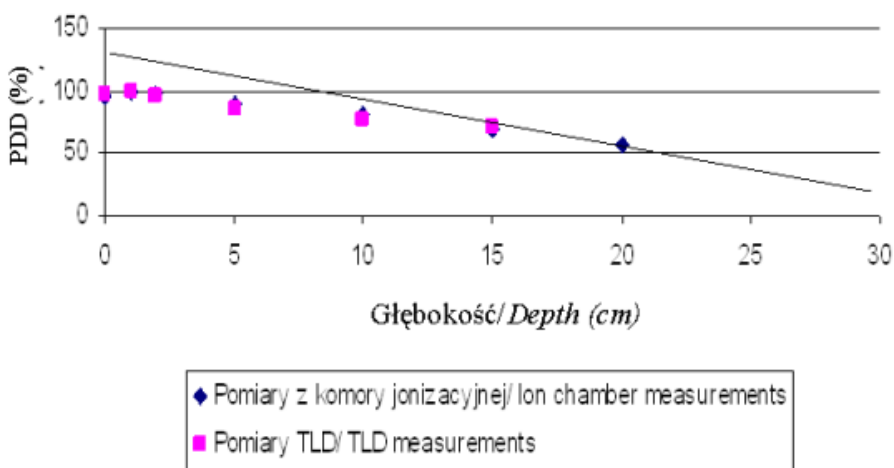
- 1 cm) i sond półprzewodnikowych z wbudowaną warstwą likwidującą efekt *build-up*.
3. Lokalizacja dozymetrów termoluminescencyjnych i sond półprzewodnikowych była ujednoczona: na czole, szyi, po dwie na prawej i lewej połowie klatki piersiowej (pod osłoną dla płuca i nad płucem nie osłoniętym), na wysokości środkowego i górnego śródpiersia, na pępku, prawym kolanie i prawej kostce w polach AP i PA.
  4. We wszystkich lokalizacjach dozymetrów z wyjątkiem klatki piersiowej mierzono dawkę z wlotu i wyjścia – czyli jednocześnie w obu polach AP i PA.

#### 4.6.5. Sposób obliczania dawki

Liczbę jednostek monitorowych (MU) przypadających na pierwszą frakcję obliczano według wzoru

$$\text{Całkowita liczba MU} = \frac{\text{Dawka frakcyjna (cGy)}}{\text{PDD} \times K_{\text{TBI}} \times [(425 + D_{\text{max}})/(\text{SSD} + D_{\text{max}})]^2}$$

gdzie: PDD – procentowa dawka głębokościowa (wynika z wykresu pomiarów wstępnych), MU dla AP lub PA = 1/2 całkowitej liczby MU; dla fotonów o energii 6 MeV:  $K_{\text{TBI}} = 0,0556$ ,  $D_{\text{max}} = 1$  cm,



Ryc. 4. Procentowa dawka głębokościowa dla SL20B wiązki fotonowej o energii 6 MeV przy napromienianiu całego ciała

*Fig. 4. Percentage depth dose for SL20B 6 MeV photon beam TBI*

#### 4.6.6. *Biologiczny równoważnik dawki (BED)*

Dla wszystkich poziomów dawek obliczono BED dla nowotworu oraz narządów krytycznych: płuc, wątroby i nerek. Stosowano zmodyfikowany wzór dla frakcjonowanego napromieniania o niskiej mocy dawki, oparty o model liniowo-kwadratowy (LQ-BED) [163]:

$$\text{BED} = nRT [1 + kR/(\alpha/\beta)]$$

gdzie R oznacza moc dawki, T – czas trwania pojedynczej frakcji, n = liczba frakcji,  $k = 2[1 - \{1 - \exp(-\mu T)\} / \mu T] / \mu$ . R = 7,2 Gy/h, T = 0,2 h. Współczynnik  $\mu$  wynika z czasu połowicznego naprawy uszkodzeń subletalnych ( $T_{1/2} = \ln 2 / \mu$ ).

Przyjęto następujące wartości współczynników:

dla nowotworu:  $\alpha/\beta = 10$ ;  $\mu = 1,4$

dla płuc: odczyn późny  $\alpha/\beta = 3,5$ ; odczyn ostry  $\alpha/\beta = 8,8$ ;  $\mu = 0,46$

dla wątroby:  $\alpha/\beta = 3,5$ ;  $\mu = 0,46$

dla nerek:  $\alpha/\beta = 2,5$ ;  $\mu = 0,46$

dla soczewek:  $\alpha/\beta = 0,75$ ;  $\mu = 0,65$ .

#### 4.6.7. *Ocena objawów niepożądanych zależnych od schematu leczenia (RRT) i maksymalnej dawki tolerancji (MTD) TMI*

RRT definiowano jako każdy objaw niepożądany z wyjątkiem zakażeń i powikłań krwotocznych, jaki wystąpił w okresie pierwszych 100 dni po leczeniu TMI/HCT. W ocenie niehematologicznych powikłań posługiwano się skalą Bearmana (tabela 6). Maksymalną dawkę tolerowaną (MTD) określono jako dawkę całkowitą TMI, po której RRT w 3. i 4. stopniu nasilenia występuje u  $\leq 10\%$  chorych. Chorych leczono w ośmioosobowych kohortach, zaczynając od 3. poziomu dawki czyli od 12 Gy w 8 frakcjach podanych w ciągu 4 dni. Kolejne ośmioosobowe grupy chorych leczono dawką całkowitą wyższą lub niższą o jedną dawkę frakcyjną, w zależności od tolerancji leczenia w poprzedniej grupie. Jeśli w danej kohorcie nie wystąpiły powikłania w 3. lub 4. stopniu, następna kohorta otrzymywała wyższą dawkę całkowitą. Jeśli RRT 3. lub 4. stopnia wystąpiło u nie więcej niż jednego chorego, powiększano kohortę leczonych daną dawką o kolejnych 8 chorych. Jeśli RRT 3. lub 4. stopnia

wystąpiły u 2 chorych, następna kohorta otrzymywała niższą dawkę całkowitą. Zasady te stosowano do momentu, w którym daną dawkę całkowitą otrzymało co najmniej 16 chorych. Eskalacja dawki była możliwa, jeśli wystąpił nie więcej niż jeden przypadek RRT 3. lub 4. stopnia w grupie 16 chorych obserwowanych przez co najmniej 50 dni. Dwa lub trzy przypadki wśród 16 chorych oznaczały, że daną dawkę przyjmowano jako maksymalną dawkę tolerancji (MTD). Więcej niż trzy przypadki RRT 3. lub 4. stopnia wśród 16 chorych oznaczały, że dawka przekracza MTD. Do dawki całkowitej związanej z ponad 10% ryzykiem RRT 3. lub 4. stopnia nigdy nie wracano.

W celu sprawdzenia poprawności założeń statystycznych i zminimalizowania ryzyka narażenia chorych na poważne RRT przeprowadzono 5000 symulacji statystycznych dla różnych wartości ryzyka RRT (przykład w tabeli 8).

Tabela 8. Przykładowy wynik symulacji statystycznej  
*Table 8. The example of statistical simulation results*

<b>Poziom dawki</b> <i>Dose level</i>	<b>Ryzyko RRT</b> <i>RRT risk</i>	<b>Liczba prób potrzebnych do określenia MTD (%)</b> <i>Number of events required to assess MTD</i>
1 (9,0 Gy)	0,001	0
2 (10,5 Gy)	0,005	0,4
3 (12,0 Gy)	0,01	20,9
4 (13,5 Gy)	0,10	47,7
5 (15,0 Gy)	0,20	26,7
6 (16,5 Gy)*	0,30	4,3

Średnia liczebność kohorty 28 / *Medium number of patients per cohort*

Średnie ryzyko RRT 0,13 / *Medium RRT risk*

Średnia liczba RRT 3,8 / *Medium number of RRT*

\* wymagana dodatkowa osłona nerek / *Additional kidney block required*

#### 4.7. Metody statystyczne

Zmienne jakościowe i ilościowe porównano za pomocą testów chi-kwadrat ( $\chi^2$ ) i Manna-Whitneya. Wskaźniki przeżyć całkowitych (OS) i przeżyć wolnych od progresji (RFS) oszacowano przy użyciu metody Kaplana Meiera [164], a dla



---

oceny ryzyka nawrotu – metodą skumulowanej częstości zdarzeń. Jako datę początkową przyjęto dzień 0, czyli dzień przeszczepienia (w przypadku leczenia tandemowego dniem 0. był dzień drugiego przeszczepienia komórek krwiotwórczych), a datę końcową – datę ostatniej wizyty, zgonu, progresji lub nawrotu [165]. Wartość dwustronnego wskaźnika  $p$  oszacowano testem Walda. W celu znalezienia czynników ryzyka o znamionym wpływie na OS i/lub RFS zastosowano analizę wieloczynnikową Coxa. Odpowiedź na leczenie porównano stosując test log-rank. W celu porównania toksyczności poszczególnych schematów leczenia zastosowano test Fishera. Maksymalną dawkę tolerowaną (MTD) oszacowano stosując zmodyfikowaną metodę Hsi [166].

## 5. WYNIKI

### 5.1. Przyjęcie przeszczepu

#### 5.1.1. *Przyjęcie przeszczepu po kondycjonowaniu z zastosowaniem schematu BuMelTT i BEAM*

Przyjęcie przeszczepu oceniono w całej grupie. Kryterium przyjęcia przeszczepu była liczba ANC wyższa od  $0,5 \times 10^9 /L$  w ciągu pierwszych 3 dni lub liczba PLT wyższa od  $20 \times 10^9 /L$  w ciągu pierwszych 7 dni bez przetoczeń. Mediana przetoczonych komórek CD34+ w grupie BEAM i BuMelTT wynosiła odpowiednio  $5,71 \times 10^6 /kg$  (zakres  $1,86-11,84 \times 10^6 /kg$ ) i  $5,41 \times 10^6 /kg$  (zakres  $2,5-15,0 \times 10^6 /kg$ ). U wszystkich chorych leczonych schematem BEAM z wyjątkiem jednego doszło do przyjęcia przeszczepu z osiągnięciem ANC  $\geq 0,5 \times 10^9 /L$  w dniu 3.–19. (mediana 13) i do uniezależnienia się od przetoczeń płytek krwi pomiędzy 8. a 41. dniem (mediana 13). W grupie leczonej schematem BuMelTT u 3 chorych nie doszło do przyjęcia się przeszczepu, w tym u 2 chorych, którzy zmarli z powodu innych RRT przed 28. dniem. U pozostałych 54 chorych (95%) stwierdzono przyjęcie przeszczepu z ANC  $\geq 0,5 \times 10^9 /L$  w dniu 10.–28. (mediana 12) i PLT  $\geq 20 \times 10^9 /L$  w dniach 8.–53. (mediana 12). Chorym leczonym schematem BEAM przetoczono od 0 do 19 (mediana 16) jednostek płytek krwi i od 0 do 19 (mediana 4) jednostek masy czerwonych krwinek, w porównaniu do 4 do 592 (mediana 17) jednostek płytek i 0 do 54 jednostek masy czerwonych krwinek u chorych z grupy BuMelTT. Z powodu powolnego wzrostu wartości ANC 5 chorych w grupie BEAM i 6 w grupie BuMelTT wymagało stosowania rhG-CSF.

#### 5.1.2. *Przyjęcie przeszczepu po kondycjonowaniu z udziałem TMI w leczeniu tandemowym*

Przyjęcie przeszczepu po pierwszej transplantacji oceniono u 57 chorych. Mediana liczby przetoczonych komórek CD34+ wynosiła  $6,78 \times 10^6 /kg$  masy ciała (zakres  $2,69-31,2 \times 10^6 /kg$  masy ciała). U wszystkich chorych uzyskano przyjęcie przeszczepu, wyrażone liczbą ANC  $\geq 0,5 \times 10^9 /L$  w dniach 8.–16. (mediana 11) oraz PLT  $\geq 20 \times 10^9 /L$  w dniach 7.–24. (mediana 11). Chorym przetoczono od 3 do 67 (mediana 16) jednostek płytek krwi i od 4 do 21 (mediana 6) jednostek masy czerwonych krwinek. Z powodu powolnego wzrostu wartości ANC, 5 chorych wymagało stosowania rhG-CSF.

Przyjęcie przeszczepu po TMI/autoHCT oceniono u 53 chorych. Mediana liczby przetoczonych komórek CD34+ wynosiła  $7,84 \times 10^6 /kg$  masy ciała (zakres  $2,84-44,12 \times 10^6 /kg$  masy ciała). U wszystkich chorych uzyskano przyjęcie przeszczepu, tj. liczbę ANC  $\geq 0,5 \times 10^9 /L$  w dniach 9.–23. (mediana

11) oraz  $PLT \geq 20 \times 10^9/L$  w dniach 7.–36. (mediana 9). Chorym przetoczono od 6 do 114 (mediana 12) jednostek płytek krwi i od 0 do 27 (mediana 2) jednostek masy czerwonych krwinek. Z powodu powolnego wzrostu wartości ANC, 3 chorych (12%) którzy otrzymali dawkę 12 Gy i 5 chorych (28%), którzy otrzymali dawkę 15 Gy wymagało stosowania rhG-CSF ( $p=0,002$ ). Zapotrzebowanie na preparaty krwiopochodne po pierwszej transplantacji poprzedzonej kondycjonowaniem schematem BuMelTT było znamienne wyższe niż po zastosowaniu schematu BuMelTT ( $p=0,01$ ).

Po leczeniu tandemowym 8 chorych na szpiczaka, u których nie uzyskano CR, otrzymało immunoterapię w tym 5 interleukinę 2 oraz 3 interferon  $\alpha$ .

## 5.2. Toksyczność leczenia (RRT)

### 5.2.1. RRT po kondycjonowaniu z udziałem schematu BuMelTT i BEAM

#### 5.2.1.1. Powikłania wczesne

Szczegóły dotyczące objawów niepożądanych po HDC/PBSCT w obu grupach przedstawia tabela 9. Najczęstszym objawem niepożądanym w 3. stopniu było zapalenie błon śluzowych jamy ustnej, które wystąpiło u 67% chorych leczonych schematem BuMelTT i u 12% chorych leczonych schematem BEAM ( $p<0,0001$ ). Zagrożające życiu powikłania w 3. i 4. stopniu wystąpiły u 10 chorych (17%) leczonych wyłącznie schematem BuMelTT. Wśród nich były 4 przypadki niewydolności wątroby, 10 przypadków uszkodzenia płuc i niewydolności oddechowej i 7 przypadków uszkodzenia serca. Sześciu chorych zmarło, w tym po 1 z powodu zespołu ostrej niewydolności oddechowej, ostrego idiopatycznego zapalenia płuc, niewydolności wielonarządowej, uogólnionej grzybicy, zespołu zatokowej niedrożności wątroby (SOS) i nagłego zatrzymania krążenia. Stwierdzono znamienne związki ryzyka zespołu zatokowej niedrożności wątroby z przebyciem zapaleniem wątroby ( $p<0,0001$ ). Natomiast czynnikiem ryzyka niewydolności oddechowej było przebyte wcześniej napromienianie okolicy klatki piersiowej ( $p<0,00001$ ). Nie znaleziono czynników ryzyka dla powikłań kardiologicznych.

Tabela 9. Występowanie RRT w obu grupach chorych  
 Table 9. RRT assessment in both treatment groups

Toksyczność <i>Toxicity</i>	BEAM n (%)				BuMeIT n (%)				p
	Stopień / Grade				Stopień / Grade				
	0-1	2	3	4	0-1	2	3	4	
Zapalenie błon śluzowych <i>Mucosal</i>	4 (8)	39 (80)	6 (12)	0	0	19 (33)	39 (67)	0	<0,0001
Przewód pokarmowy <i>Gastrointestinal</i>	12 (24)	30 (62)	7 (14)	0	12 (21)	39 (67)	7 (12)	0	
Płuca <i>Pulmonary</i>	41 (84)	8 (16)	0	0	45 (78)	3 (5)	7 (12)	3 (5)	0,002
Serce <i>Cardiac</i>	43 (88)	5 (10)	1 (2)	0	51 (88)	0	6 (10)	1 (2)	0,07
Wątroba <i>Hepatic</i>	49 (100)	0	0	0	44 (76)	10 (17)	0	4 (7)	<0,0001
Nerki <i>Renal</i>	49 (100)	0	0	0	55 (95)	3 (5)	0	0	
Pęcherz moczowy <i>Urinary</i>	49 (100)	0	0	0	58 (100)	0	0	0	
Ośrodkowy układ nerwowy <i>CNS</i>	49 (100)	0	0	0	58 (100)	0	0	0	

Gorączka neutropeniczna w grupie BuMeIT i BEAM wystąpiła z podobną częstością – odpowiednio u 91% i 86% chorych. W grupie BuMeIT przyczynę gorączki ustalono u 40 chorych (75%), a w grupie BEAM – u 26 (62%). Przyczyny zakażeń przedstawia szczegółowo tabela 10.

Tabela 10. Udokumentowane zakażenia  
 Table 10. Documented infections

Zakażenie / <i>Infection</i>	BuMeIT (N=58) n (%)	BEAM (N=49) n (%)
Bakteryjne / <i>Bacterial</i>	33 (57)	22 (45)
Wirusowe / <i>Viral</i>	14 (24)	6 (12)
<i>CMV</i>	9 (15)	2 (4)
<i>HSV</i>	1 (1.7)	4 (8)
<i>VZV</i>	1 (1.7)	0
Grzybicze / <i>Fungal</i>	11 (19)	8 (16)
<i>Aspergillosis</i>	5 (9)	6 (12)

### 5.2.1.2. Powikłania późne

U 98 chorych (54 w grupie BuMeITT i 44 w grupie BEAM), którzy przeżyli ponad 100 dni, oceniono późne powikłania leczenia. Wszyscy chorzy, których czas przeżycia był dłuższy niż jeden rok, byli oceniani podczas badań kontrolnych oraz na podstawie dwuczęściowych kwestionariuszy LTFU (*long-term follow-up questionnaire*) wypełnianych co 6 miesięcy przez chorych i opiekujących się nimi lekarzy rodzinnych. Najczęstszym powikłaniem były zakażenia, które w grupie BuMeITT i w grupie BEAM wystąpiły odpowiednio u 9 (16,5%) i u 13 (29,5%) chorych. Pancytopenia w obu grupach wystąpiła u odpowiednio 6 (11%) i 5 (11%) chorych, neutropenia – u 2 (4% i 5%) chorych, niedokrwistość – u 4 (7%) i 5 (11%) chorych (w tym odpowiednio w 1 i 3 przypadkach była to anemia hemolityczna) i trombocytopenia – u 12 (22%) i 5 (11%) chorych. Powikłania zakrzepowo-zatorowe wystąpiły w grupie BuMeITT i BEAM odpowiednio u 6 (11%) i 2 (5%) chorych, zaburzenia rytmu serca i niewydolność krążenia u 4 (7%) i 7 (16%) chorych, niewydolność oddechu u 2 (4%) i 6 (14%) chorych, niewydolność nerek u 0 i 3 (7%) chorych i zmęczenie u 12 (22%) i 5 (11%) chorych. U 28 chorych (52%) leczonych schematem BuMeITT i u 5 chorych (11%) leczonych schematem BEAM rozpoznano chorobę typu przeszczep przeciw gospodarzowi (*pseudo GVHD*), w każdym przypadku potwierdzoną histopatologicznie.

### 5.2.2. RRT po kondycjonowaniu z udziałem TMI w leczeniu tandemowym

#### 5.2.2.1. Wczesne powikłania okołoprzeszczepowe

U wszystkich chorych po transplantacji z udziałem BuMeITT wystąpiła biegunka, w tym u 3 (5%) w 3. stopniu nasilenia, oraz zapalenie błon śluzowych, w tym u 24 (42%) – w 3. stopniu nasilenia, oznaczającym konieczność żywienia przez zgłębnik. Wśród innych ciężkich powikłań narządowych najczęściej rozpoznawano zespół zatokowej niedrożności wątroby (SOS) przebiegający z wodobrzuszem i hiperbilirubinemią (najwyższe zaobserwowane stężenie bilirubiny wyniosło 76 mg/dl w 6. dobie). Nie odnotowano żadnego zgonu z powodu toksyczności leczenia. U wszystkich chorych doszło do gorączki neutropenicznej, w tym u 33 udokumentowano przyczynę zakażenia. Rozpoznano 15 zakażeń wirusowych, w tym 3 przypadki HSV, po 2 przypadki VZV, CMV, rotawirusa adenowirusa, paragrypy i 1 RSV. Zakażenia bakteryjne rozpoznano u 23 chorych, a grzybice (*Candida glabrata*) – u 2. Dokładny wykaz RRT przedstawiono w tabeli 11.

Tabela 11. Powikłania po pierwszej transplantacji z udziałem BuMeITT (N=57)  
 Table 11. Treatment-related complications after the first transplant with the use of Bu-MeITT

Powikłanie <i>Complication</i>	Liczba chorych / <i>Number of patients n (%)</i>			
	Nasilenie / <i>Grade</i>			Łącznie / <i>All</i>
	1. stopnia	2. stopnia	3. stopnia	
Płucne <i>Pulmonary</i>	2 (4)	4 (7)	2 (4)	8 (14)
Sercowe <i>Cardiac</i>	2 (4)	3 (5)	2 (4)	7 (12)
Pokarmowe <i>Gastrointestinal</i>	28 (49)	26 (46)	3 (5)	57 (100)
Wątrobowe <i>Hepatic</i>	8 (14)	4 (7)	6 (11)	18 (32)
Nerkowe <i>Renal</i>	7 (12)	1 (2)	0 (0)	8 (14)
Moczowe <i>Urinary</i>	4 (7)	3 (5)	1 (2)	8 (14)
Skórne <i>Skin</i>	9 (16)	7 (12)	3 (5)	19 (33)
Śluzówkowe <i>Mucosal</i>	0 (0)	33 (58)	24 (42)	57 (100)
OUN* <i>CNS</i>	2 (4)	2 (4)	0 (0)	4 (7)

\*ośrodkowy układ nerwowy / *central nervous system*

Po TMI i drugiej transplantacji, niezależnie od dawki całkowitej, najczęściej dochodziło do zapalenia błon śluzowych w 1.–2. stopniu nasilenia. Biegunka wystąpiła u 34% chorych, a odczyn skórny – u 19%. Pozostałe powikłania przedstawiono w tabeli 14. U wszystkich chorych wystąpiła gorączka neutropeniczna. Przyczynę zakażenia udokumentowano u 20 chorych (38%), w tym u 8 stwierdzono tło wirusowe (HSV u 2, VZV u 3, CMV u 1 chorego), u 4 – grzybicze (*Candida glabrata* u 2, *Candida lusitaniae* u 1, *Aspergillus fumigatus* u 1) i u 8 – bakteryjne.

Tabela 12. Ostre powikłania 1.–2. stopnia po TMI (N=53)

Table 12. Acute grade 1–2 complications of TMI (N=53)

Powikłanie 1.–2. stopnia <i>Grade 1–2 complication</i>	Liczba chorych / <i>Number of patients n (%)</i>			
	Dawka TMI / <i>TMI dose level</i>			Łącznie / <i>All</i>
	12 Gy (N=25)	13,5 Gy (N=11)	15 Gy (N=17)	
Płucne <i>Pulmonary</i>	2 (8)	0 (0)	1 (6)	3 (6)
Sercowe <i>Cardiac</i>	2 (8)	0 (0)	3 (18)	5 (9)
Pokarmowe <i>Gastrointestinal</i>	11 (44)	3 (27)	4 (4)	18 (34)
Wątrobowe <i>Hepatic</i>	1 (4)	1 (9)	3 (18)	5 (9)
Nerkowe <i>Renal</i>	0 (0)	0 (0)	5 (29)	5 (9)
Moczowe <i>Urinary</i>	0 (0)	0 (0)	1 (6)	1 (2)
Skórne <i>Skin</i>	5 (20)	2 (18)	3 (18)	10 (19)
Śluzówkowe <i>Mucosal</i>	25 (100)	11 (100)	17 (100)	53 (100)
OUN* <i>CNS</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

\* ośrodkowy układ nerwowy / *central nervous system*

Większość objawów niepożądanych w 1. i 2. stopniu nasilenia występowała z podobną częstością po obu przeszczepieniach. Chemioterapia BuMeITT znamiennej częściej niż TMI powodowała ostre zespoły biegunkowe, SOS i krwimocz (tabela 13).

Tabela 13. Porównanie ostrych RRT 1.–2. stopnia po pierwszej i drugiej transplantacji

Table 13. Comparison of acute grade 1–2 RRT after the first and after the second transplant

Powikłanie 1.-2. stopnia <i>Grade 1-2 complication</i>	Sposób kondycjonowania <i>Conditioning method</i>		P
	BuMeITT n (%)	TMI n (%)	
Płucne <i>Pulmonary</i>	6 (10)	3 (6)	NS
Sercowe <i>Cardiac</i>	5 (9)	5 (9)	NS

Powikłanie 1.-2. stopnia <i>Grade 1-2 complication</i>	Sposób kondycjonowania <i>Conditioning method</i>		p
	BuMeITT n (%)	TMI n (%)	
Pokarmowe <i>Gastrointestinal</i>	54 (95)	18 (34)	0,0001
Wątrobowe <i>Hepatic</i>	12 (21)	5 (9)	0,001
Nerkowe <i>Renal</i>	8 (14)	5 (9)	NS
Moczowe <i>Urinary</i>	7 (12)	1 (2)	<0,00001
Skórne <i>Skin</i>	16 (28)	10 (19)	NS
Śluzówkowe <i>Mucosal</i>	33 (58)	53 (100)	<0,0001
OUN* <i>CNS</i>	2 (4)	0 (0)	NS

\* ośrodkowy układ nerwowy / *central nervous system*

Zagrażające życiu lub śmiertelne RRT wystąpiły u 5 chorych (9%): u jednego chorego (4%) w grupie leczonej dawką 12 Gy i u 4 (24%) w grupie leczonej dawką 15 Gy (tabela 14). W grupie leczonej dawką 13,5 Gy nie stwierdzono żadnego przypadku RRT w 3.-4. stopniu nasilenia.

Jedynе śmiertelne powikłanie po TMI w dawce 12 Gy wystąpiło u 48-letniej chorej z rozpoznaniem raka piersi w stopniu T1N1M0 (*carcinoma ductale invasivum*, G3, z zajęciem 17/23 węzłów chłonnych pachowych, ER+, PR-). U chorej tej w trakcie pooperacyjnej chemioterapii według schematu FAC ujawniły się przerzuty do kości i szpiku. Podczas zastosowanej następnie hormonoterapii (tamoksyfen w dawce 20 mg/dobę) nastąpiła dalsza progresja. Ponownie wdrożono chemioterapię (według schematu TaCY), podczas której doszło do dalszej progresji. Wówczas zastosowano BuMeITT z autoHCT. Po całkowitym ustąpieniu powikłań po pierwszej transplantacji chora otrzymała napromienianie na obszar ściany klatki piersiowej i regionalnych węzłów chłonnych, a po 3 miesiącach – TMI z drugą autoHCT. W 55. dobie po drugiej transplantacji wystąpiły objawy popromiennego zapalenia płuc potwierdzone biopsją wycinkową płuca. Pomimo podawania kortykosteroidów (prednizon 1 mg/kg masy ciała) stan chorej się pogarszał, została podłączona do respiratora i w 156. dobie zmarła. Stwierdzenie takiego powikłania po TMI 12 Gy spowodowało włączenie do grupy leczonej tą dawką kolejnych 8 chorych. Powtórna analiza planów radioterapii wykazała, że w opisanym przypadku sumaryczna dawka na płuca podana podczas pooperacyjnego napromieniania i TMI przekroczyła dawkę krytyczną ( $V_{16} \geq 40\%$ ). Na tej podstawie



wprowadzono poprawkę do protokołu, według której u chorych wymagających napromieniania ściany klatki piersiowej lub płuca w czasie  $\pm 6$  miesięcy od TMI łączna dawka nie mogła przekraczać 12 Gy.

Tabela 14. Ostre powikłania 3.-4. stopnia po TMI (N=53)

Table 14. Acute grade 3-4 complications of TMI (N=53)

Powikłania 3.-4. stopnia <i>Grade 3-4 complications</i>	Liczba chorych / <i>Number of patients n (%)</i>			
	Dawka TMI / <i>TMI dose level</i>			Łącznie / <i>All</i>
	12 Gy (N=25)	13,5 Gy (N=11)	15 Gy (N=17)	
Płucne <i>Pulmonary</i>	1 (4)	0 (0)	4 (24)*	5 (9)
Niewydolność wielonarządowa <i>Multiorgan failure</i>	0 (0)	0 (0)	1 (6)*	1 (2)
Razem / <i>Together</i>	1 (4)	0 (0)	4 (24)	5 (9)

\* U jednego chorego rozpoznano niewydolność oddechową, po której rozwinęła się niewydolność wielonarządowa / *One patient was diagnosed with pulmonary failure which later evolved to the multiorgan failure*

Ponieważ po zastosowaniu dawki 12 Gy nie wystąpiły nowe przypadki RRT 3. lub 4. stopnia, zgodnie z protokołem podniesiono dawkę do 13,5 a następnie do 15 Gy. W grupie leczonej dawką 15 Gy wystąpiły 4 przypadki RRT 4. stopnia. Pierwszym był ostry zespół niewydolności oddechowej (ARDS) u 60-letniej kobiety z chemooporną postacią szpiczaka w stopniu IIIb, który doprowadził do niewydolności wielonarządowej zakończonej zgonem w 35. dobie po TMI. Kolejnym śmiertelnym RRT (zgon w 86. dobie) było zarostowe zapalenie oskrzelików z zapaleniem płuc (BOOP) u 66-letniego chorego z dwoma nowotworami: rakiem piersi w stopniu T1N1M0 (*carcinoma ductale invasivum*, G2, ER+, PR+, z przerzutami do 2 spośród 14 usuniętych węzłów pachowych), leczonym operacyjnie i tamoksyfenem, oraz szpiczaka w stopniu IIIa. Trzeci przypadek dotyczył 59-letniego mężczyzny z rozpoznaniem szpiczaka mnogiego w stadium IIIa, w fazie chemoopornej. Objawy ostrej niewydolności oddechowej wystąpiły u niego w trzeciej dobie po TMI, a w 25. dobie chory zmarł z powodu potwierdzonego mikroskopowo rozlanego uszkodzenia pęcherzyków płucnych (DAD). Ostatnie śmiertelne powikłanie dotyczyło 28-letniej chorej z uogólnionym nawrotem raka piersi, w stopniu T2N1M0 w momencie rozpoznania (*carcinoma ductale invasivum*, G2, ER+, PR+, HER2-, z przerzutem do 1 pachowego węzła chłonnego). Chora została poddana leczeniu oszczędzającemu pierś, chemioterapii uzupełniającej (FAC), hormonoterapii (tamoksyfen), chemioterapii II rzutu (AT) w chwili nawrotu, hormonoterapii II rzutu (goserelina, anastrozol) i chemioterapii III rzutu (CE).

W 90. dobie po TMI wystąpiły objawy popromiennego zapalenia płuc, które wymagały steroidoterapii. Po 8 tygodniach leczenia objawy zapalenia płuc ustąpiły, jednak szybka progresja i zakażenie grzybicze (*Aspergillus fumigatus*) doprowadziły do zgonu pacjentki.

Spośród 28 chorych, z obecnością powikłań narządowych po pierwszym leczeniu BuMeIT/autoHCT, u 9 (30%) doszło także do powikłań po drugim leczeniu TMI/autoHCT. Dwoje chorych z RRT 1. stopnia po pierwszej transplantacji (w obu przypadkach zaburzenia funkcji nerek) zmarło z powodu uszkodzenia płuc po drugim leczeniu. U 6 spośród 8 chorych (75%) z ciężkim RRT (3. stopnia) po BuMeIT nie wystąpiły powikłania po TMI w okresie okołoprzeszczepowym. Z kolei u 2 chorych z doskonałą tolerancją kondycjonowania BuMeIT doszło do śmiertelnego uszkodzenia płuc po TMI.

#### 5.2.2.2. Późne powikłania

Późne następstwa leczenia oceniono u 41 chorych, którzy przeżyli co najmniej 6 miesięcy. U 15 chorych (37%) doszło do zwłóknienia płuc z objawami przewlekłego kaszlu i duszności wysiłkowej, w dwóch przypadkach w stopniu ciężkim (jeden chory zmarł, a drugi żyje po przeszczepieniu płuc). W przeciwieństwie do ostrych powikłań płucnych, które wystąpiły po TMI w dawce 15 Gy odpowiadającej BED 16,92 Gy, ryzyko późnego zwłóknienia płuc było podobne w trzech grupach, niezależnie od dawki TMI (u wszystkich chorych  $V_{16} < 70\%$ ). Przebieg kliniczny był jednak cięższy po dawce 15 Gy (mediana  $DL_{CO}$  wynosiła w tej grupie 49%, zakres 34–51%;  $FEV_1$  49–67%, mediana 59%) (tabela 15). Przewlekłe biegunki i zespół złego wchłaniania wystąpiły u 9 chorych (17%), u 5 – po BuMeIT i u kolejnych 4 – po TMI. Wycinki błony śluzowej jelit wykazały obecność zmian jak w reakcji *pseudo GVHD*. U 6 chorych (15%) wystąpiła nieodwracalna kserostomia. U 7 chorych (17%) po 9.–14. miesiącach od TMI rozwinęła się bezobjawowa niedoczynność tarczycy, która u jednego chorego leczonego dawką 12 Gy ustąpiła po 3 miesiącach leczenia. Przewlekłą niewydolność nerek po 8. do 21. miesiącach (mediana 14 miesięcy) od leczenia rozpoznano u 5 chorych (12%), z których 2 wymagało dializoterapii. W jednym z tych przypadków badanie histologiczne bioptatów nerek wykazało mikroangiopatię zakrzepową. Zaćma po 11.–28. miesiącach (mediana 22 miesiące) wystąpiła u 9 chorych (22%), niezależnie od dawki TMI. U wszystkich uzyskano poprawę po przeszczepieniu soczewek. Ponadto u 5 chorych (12%) rozpoznano zespół suchego oka. Nawracające zakażenia, głównie wirusowe, wystąpiły u 13 chorych (32%). U wszystkich tych chorych stwierdzono limfopenię  $< 0,8 \times 10^9 / L$ . W jednym przypadku rozpoznano zespół Sweeta, który był przyczyną zgonu. U wszystkich kobiet w wieku przedmenopauzalnym doszło do kastracji. Dzieci wymagały substytucji hormonalnej w celu zapewnienia prawidłowego rozwoju. Wszystkie dzieci,

które były leczone przed okresem pokwitania miały zaburzenia wzrostu (znajdowały się w przedziale 25 percentyla). U 5 chorych (12%) rozwinęła się druga choroba nowotworowa. U 2 spośród tych chorych rozpoznano wtórny zespół mielodysplastyczny (MDS). Chory z CMML (z aberracją 11q23), który po 3 latach od TMI otrzymał po raz trzeci wysokodawkową chemioterapię i allogeniczną transplantację komórek krwiotwórczych, żyje bez objawów nawrotu. Drugi jest obserwowany i dotychczas nie wymaga leczenia. U pozostałych trzech chorych rozwinęły się guzy lite, które leczono operacyjnie. MDS rozpoznano także u jednego chorego równocześnie z nawrotem choroby. Czternastu chorych (34%) skarżyło się na zmęczenie. Sześciu chorych (15%) poddano przewlekłemu leczeniu psychiatrycznemu z powodu depresji. We wszystkich przypadkach poprzedzały ją utrata pracy i pogorszenie sytuacji materialnej spowodowane chorobą lub jej leczeniem.

Tabela 15. Późne powikłania po TMI (N=41)

Table 15. Late post TMI complications (N=41)

Powikłanie/Complication	Liczba chorych / Number of patients n (%)			
	Dawka TMI / TMI dose level			Łącznie All
	12 Gy (N=20)	13,5 Gy (N=7)	15 Gy (N=14)	
Zwłóknienie płuc / Pulmonary fibrosis	8 (40)	1 (14)	6 (43)*	15 (37)
Niewydolność serca / Heart failure	1 <sup>±</sup> (5)	0	0	1 (2)
Niedoczynność tarczycy Hypothyroidism	2 (10)	1 (14)	3 (21)	6 (15)
Opóźnienie wzrostu <sup>†</sup> / Growth retardation	5 (100)	1 (100)	1 (100)	7 (100)
Dysfunkcje gonad <sup>‡</sup> Gonadal dysfunction	11 (100)	3 (100)	5 (100)	20 (100)
Zaćma / Cataract	4 (20)	2 (29)	3 (21)	9 (22)
Biegunka / Diarrhea	2 (10)	0	2 (14)	4 (10)
Kserostomia / Xerostomy	3 (15)	1 (14)	2 (14)	6 (15)
Nadciśnienie / Hypertension	1 (5)	1 (14)	1 (7)	3 (7)
Niewydolność nerek / Renal failure	3 (15)	1 (14)	1 (7)	5 (12)
Nowotwory wtórne / Secondary cancer	4 (20)	0	1 (7)	5 (12)
Rak skóry / skin	1 (5)	0	0	1 (2)
Rak szyjki macicy / uterine cervix	1 (5)	0	0	1 (2)
NSCLC <sup>  </sup> / lung	1 (5)	0	0	1 (2)
MDS <sup>§</sup> / MDS	1 (5)	1 (14)	1 (7)	3 (7)
Hemochromatoza / Hemochromatosis	0	0	1 (7)	1 (2)

\* – W tym 2 ciężkie przypadki (po jednym w stopniu 3. i 5. według NCI CTC v.3) / including 2 severe cases (grade 3 and 5 NCI CTC v.3)

± – niedomykalność zastawki dwudzielnej i trójdzielnej / mitral and triple valve disorders

† – oceniono u dzieci / assessed in children

‡ – oceniono u kobiet w okresie przedmenopauzalnym i dzieci / *assessed in premenopausal women and children*

¶ – niedrobnokomórkowy rak płuca / *non-small-cell lung cancer*

§ – zespół mielodysplastyczny / *myelodysplastic syndrome*

### 5.3. Biologiczny równoważnik dawki (BED)

Dla każdej z trzech dawek całkowitych obliczono BED dla komórek nowotworowych, oraz narządów krytycznych: płuc, nerek, wątroby i soczewek (tabela 16). Osobno policzono BED dla ostrego i późnego płucnego odczynu popromiennego.

Tabela 16. Biologiczne równoważniki dawek (BED) w narządach krytycznych i komórkach nowotworowych dla różnych dawek całkowitych TMI

*Table 16. Biologic equivalent of dose (BED) for critical organs and cancer cells at different TMI dose levels*

BED/ <i>BED</i>	Współczynnik $\alpha/\beta$ <sup>‡</sup> <i><math>\alpha/\beta</math> coefficient</i>	Dawka (Gy) / <i>Dose</i>		
		12 Gy / 8 fr.	13,5 Gy / 9 fr.	15 Gy / 10 fr.
Dla komórek nowotworowych <i>Cancer cells</i>	10	12,8	14,52	16
Dla płuc* (odczyn wczesny) <i>Lungs</i> ( <i>early reaction</i> )	8,8	13,52	15,29	16,92
Dla płuc* (odczyn późny) <i>Lungs</i> ( <i>late reaction</i> )	3,5	15,96	17,94	19,94
Dla nerek/wątroby* (odczyn późny) <i>Kidneys/liver</i> ( <i>late reaction</i> )	2,5	18,89	21,24	23,6
Dla soczewek (odczyn późny) <i>Lens</i> ( <i>late reaction</i> )	0,75 <sup>‡</sup>	31,97	35,97	39,97

\* – dawka bez uwzględnienia osłon na płuca i wątrobę / *dose without lung and liver shielding*

† – według [167,168]

‡ – według [169]

Analiza DVH dla płuc (sumaryczna dla napromieniania fotonami i elektronami) wykazała, że w ramieniu 12 Gy, 13,5 Gy i 15 Gy dawkę powyżej 10 Gy otrzymało odpowiednio 17–43% (mediana 21%), 21–29% (mediana 24%) i 25–31% (mediana 28%) objętości płuc.

## 5.4. Odpowiedź na leczenie

### 5.4.1. Odpowiedź na leczenie po kondycjonowaniu z zastosowaniem schematu BuMeITT i BEAM

Odpowiedź na leczenie oceniono u odpowiednio 36 i 39 chorych leczonych schematem BuMeITT i BEAM. Z analizy wyłączono chorych z całkowitą remisją przed HDC/PBSCT i tych, którzy zmarli z powodu powikłań leczenia przed oceną skuteczności terapii. Obiektywne odpowiedzi (CR + PR) uzyskano odpowiednio u 89% i 72% chorych leczonych schematem BuMeITT i BEAM (NS). Odrębnej analizie poddano chorych (20 w każdej z grup) z nowotworem pierwotnie opornym na chemioterapię, przy czym udział całkowitych remisji był znamienne wyższy w grupie BuMeITT ( $p < 0,003$ ) (tabela 17). W podgrupie chorych z nowotworem chemoopornym udział całkowitych remisji w grupie BuMeITT był także znamienne wyższy w porównaniu z BEAM ( $p < 0,008$ ) (tabela 18).

Tabela 17. Ocena odpowiedzi na leczenie w obu grupach (N=75)  
Table 17. Response rates in both study groups (N=75)

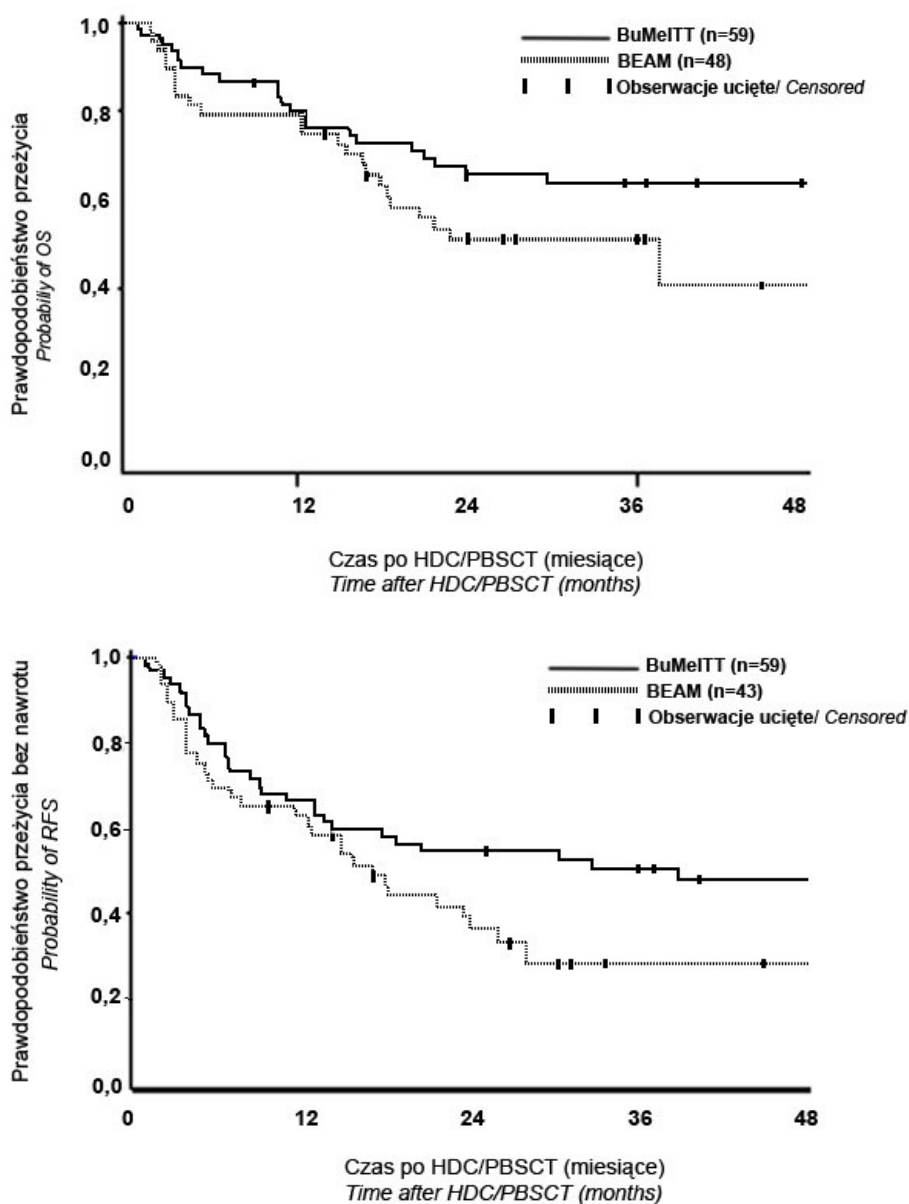
Rodzaj odpowiedzi <i>Response</i>	BuMeITT (N=36) n (%)	BEAM (N=39) n (%)	p
CR	20 (56)	12 (31)	<0,003
PR	12 (33)	16 (41)	NS
SD	3 (8)	10 (26)	NS
PD	1 (3)	1 (3)	NS

Tabela 18. Ocena odpowiedzi na leczenie w przypadkach chemoopornych (N=40)  
Table 18. Response rates in chemorefractory cases (N=40)

Rodzaj odpowiedzi <i>Response</i>	BuMeITT (N=20) n (%)	BEAM (N=20) n (%)	p
CR	11 (55)	5 (25)	<0,008
PR	6 (30)	7 (35)	NS
SD	2 (10)	7 (35)	NS
PD	1 (5)	1 (5)	NS

Czas obserwacji mieścił się w granicach od 1 do 8 lat (mediana 2,5 lat). W tym czasie 45 chorych zmarło, w tym 22 (37%) w grupie BuMeITT i 23 (48%), w grupie BEAM. U 41 chorych stwierdzono nawrót choroby. Był on przyczyną

zgonu u 12 spośród 21 chorych (57%) z nawrotem w grupie BuMeITT i u 12 spośród 20 (60%) w grupie BEAM. Ryzyko niepowodzenia leczenia (określane jako zgon albo nawrót) było nieznamiennie wyższe w grupie chorych leczonych schematem BEAM (HR 1,6 [95% CI 0,96-2,6; p=0,07]). Ryzyko zgonu w obu grupach nie różniło się znamiennie (HR 1,62 dla BEAM w stosunku do BuMeITT [95% CI 0,89-2,94; p=0,11]). Ryzyko nawrotu wynosiło odpowiednio HR 1,57 (95% CI 0,84-2,93; p=0,16).



Ryc. 5. Krzywe Kaplan-Meiera prawdopodobieństwa: A. przeżycia całkowitego. B. przeżycia bez nawrotu choroby dla obu grup chorych  
*Fig. 5. Kaplan-Meier probability of A. overall survival and B. relapse-free survival*

W analizie wieloczynnikowej uwzględniającej zaawansowanie choroby, IPI/FLIPI, wiek i wartość LDH w chwili rozpoznania i w chwili nawrotu względne ryzyko zgonu, nawrotu i niepowodzenia leczenia było w obu grupach podobne: HR odpowiednio 0,9 (95% CI 0,38–2,13;  $p=0,80$ ); 1,15 (95% CI 0,44–3,0;  $p=0,78$ )

i 0,93 (95% CI 0,44-1,98; p=0,86). Krzywe Kaplana-Meiera przeżyć całkowitych i wolnych od nawrotu przedstawiają ryciny 5A i 5B.

#### 5.4.2. *Odpowiedź na leczenie po kondycjonowaniu z udziałem TMI w leczeniu tandemowym*

Odpowiedź na leczenie oceniono odpowiednio u 57 i 50 chorych po pierwszej i drugiej transplantacji. Siedmiu chorych wykluczono z analizy skuteczności TMI z powodu zgonu w przebiegu powikłań okołoprzeszczepowych lub leczenia niezgodnego z protokołem. Wyniki przedstawiono w tabeli 19.

Tabela 19. Odpowiedź na leczenie po pierwszym i drugim leczeniu autoHCT w grupie chorych leczonych tandemowo

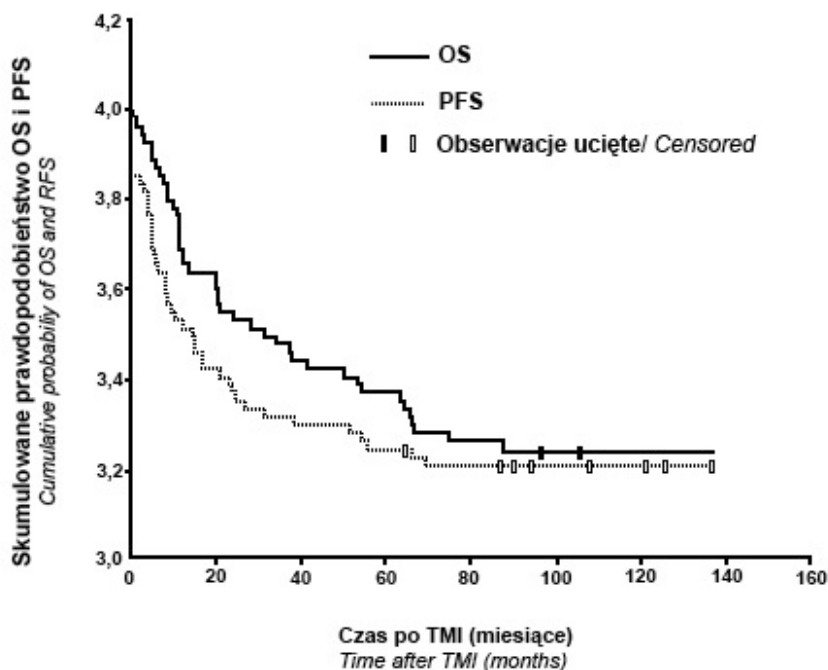
*Table 19. Response rates to the first and second HDC in patients treated with tandem transplants*

<b>Rodzaj odpowiedzi</b> <i>Response</i>	<b>BuMeITT (N = 57)</b> <b>n (%)</b>	<b>TMI (N = 50)</b> <b>n (%)</b>
CR	11 (19)	24 (48)
PR	23 (40,5)	10 (20)
SD	23 (40,5)	16 (32)
PD	0 (0)	0 (0)

Po pierwszym leczeniu BuMeITT z autoHCT uzyskano 19% CR. Intensyfikacja leczenia w postaci TMI pozwoliła na osiągnięcie CR u kolejnych 5 chorych na raka piersi, 5 chorych na szpiczaka, 2 chorych na mięsaka Ewinga i jednego chorego na chłoniaka. CR u chorych, którzy otrzymali dawkę 12 Gy, 13,5 Gy i 15 Gy uzyskano odpowiednio u 32% (7/22 chorych), 33% (3/9 chorych) i 38% (3/8 chorych).

Czas obserwacji wahał się w granicach od 77 do 136 miesięcy (mediana 96 miesięcy). Mediana OS i PFS wyniosła odpowiednio 31 (95% CI 10, 9–51, 7) i 15 miesięcy (95% CI 7, 7–22, 6), a współczynnik 5-letnich OS i PFS – odpowiednio 36 i 24% (ryc. 6). Zmarło 42 chorych (75%), w tym 33 z powodu progresji choroby, 5 z powodu wczesnych i późnych RRT, 2 – z powodu chorób sercowo-naczyniowych i 1 – po wypadku komunikacyjnym. Do czasu zamknięcia bazy danych 14 chorych (25%) żyło, w tym 10 bez objawów nawrotu.





Ryc. 6. OS i PFS dla całej grupy chorych mierzone od czasu zakończenia leczenia

Fig. 6. OS and PFS for the whole group of patients measured from the time of the second transplant

### 5.5. Wpływ HCT-CI na ryzyko zgonu

W analizie jednoczynnikowej wykazano znamiennej zależność ryzyka zgonu niezależnego od nawrotu (*non-relapse mortality* – NRM) od obliczonego HCT-CI ( $p < 0,0001$ ). W grupie chorych nie obciążonych poważnymi schorzeniami ryzyko NRM wynosiło 3,8 %, w porównaniu do 14,3% u chorych z HCT-CI =2 i 35,6% u chorych z HCT-CI  $\geq 3$  (tabela 20). W przypadku HCT-CI  $\leq 1$  wszystkie zgony toksyczne dotyczyły chorych, którzy wcześniej przebyli radykalne napromienianie. U 3 chorych było to napromienianie okolicy klatki piersiowej, u jednego – okolicy łoża po usuniętej nerce, okolicy śledziony i zaotrzewnowych węzłów chłonnych. Podobnie 3 spośród 5 chorych z HCT-CI =2 otrzymało napromienianie okolicy klatki piersiowej. Mediana czasu przeżycia dla HCT-CI  $< 3$  i  $\geq 3$  wynosiła odpowiednio 50 i 7 miesięcy.

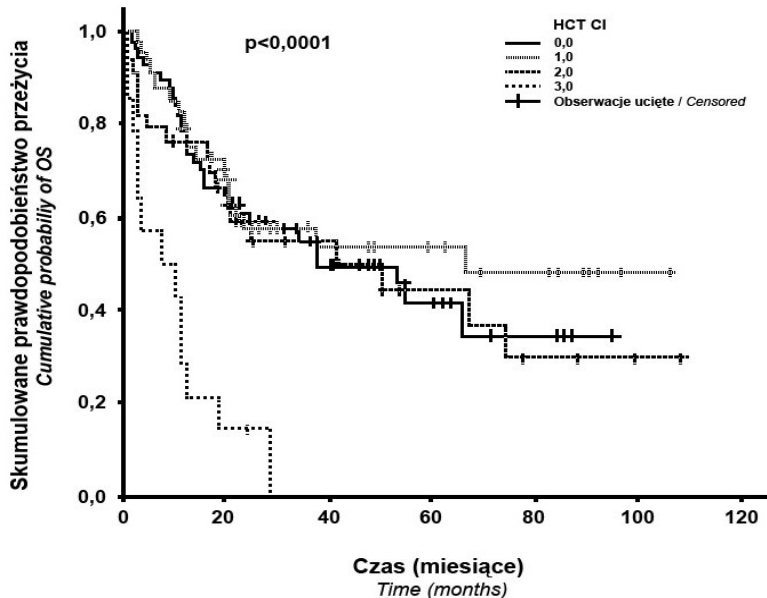
Tabela 20. Ryzyko zgonu w zależności od HCT-CI (N=153)

Table 20. The risk of death according to HCT-CI (N=153)

HCT-CI	Liczba przypadków <i>Number of cases</i>	NRM <i>n (%)</i>
0	57	1 (1,8)
1	47	3 (6,3)
2	35	5 <sup>†</sup> (14,3)
3	10	3 (30)
4	3	1 (33)
6	1	1 (100)
0 – 1	104	4* (3,8)
3 – 6	14	5 (35,6)

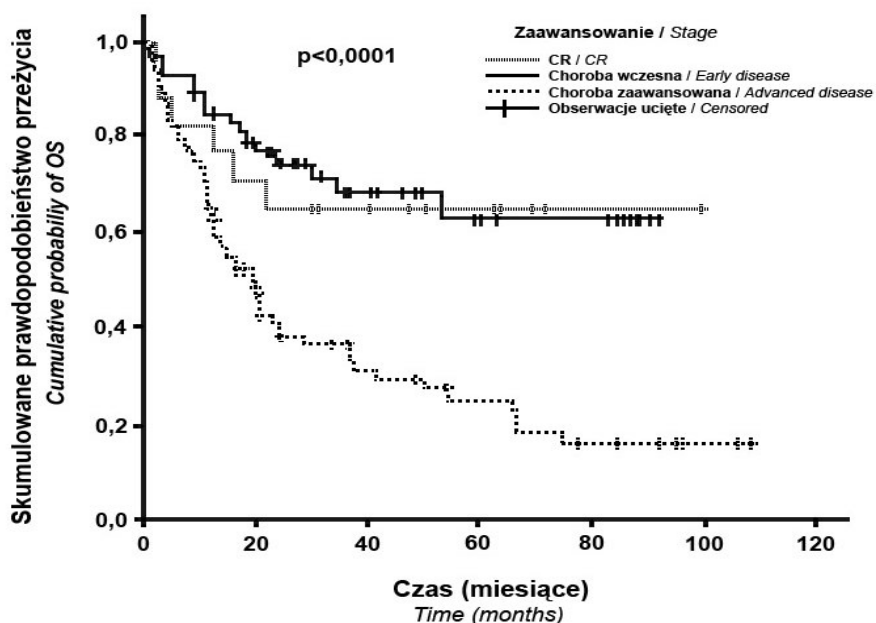
\* Wszystkie zgony wystąpiły u chorych, którzy otrzymali napromienianie okolicy klatki piersiowej przed transplantacją / *all deaths occurred in patients with a history of thoracic radiotherapy before transplant*, <sup>†</sup> 3 spośród 5 chorych otrzymało napromienianie klatki piersiowej przed transplantacją / *3 of 5 patients received thoracic radiotherapy before HCT*

Przeprowadzona analiza wieloczynnikowa, w której oceniono takie czynniki jak wiek, płeć, rozpoznanie, stopień zaawansowania/wskaźnik rokowniczy (określane jako choroba wczesna lub zaawansowana), stopień złośliwości histologicznej, sposób kondycjonowania i HCT-CI wykazała, że jedynie zaawansowanie choroby (stadium III i IV oraz IPI  $\geq 3$ ) i HCT-CI ( $\geq 3$ ) są istotnymi ( $p < 0,0001$ ) niezależnymi czynnikami ryzyka, (HR;  $\pm 95\%$  CI odpowiednio  $4,5 \pm 0,3$  i  $5,0 \pm 0,4$ ).

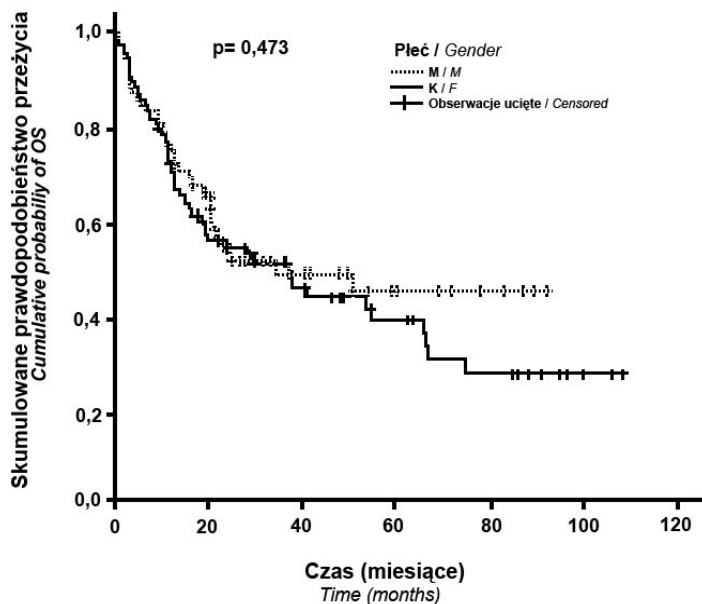


Ryc. 7. Prawdopodobieństwo przeżycia w zależności od HCT CI

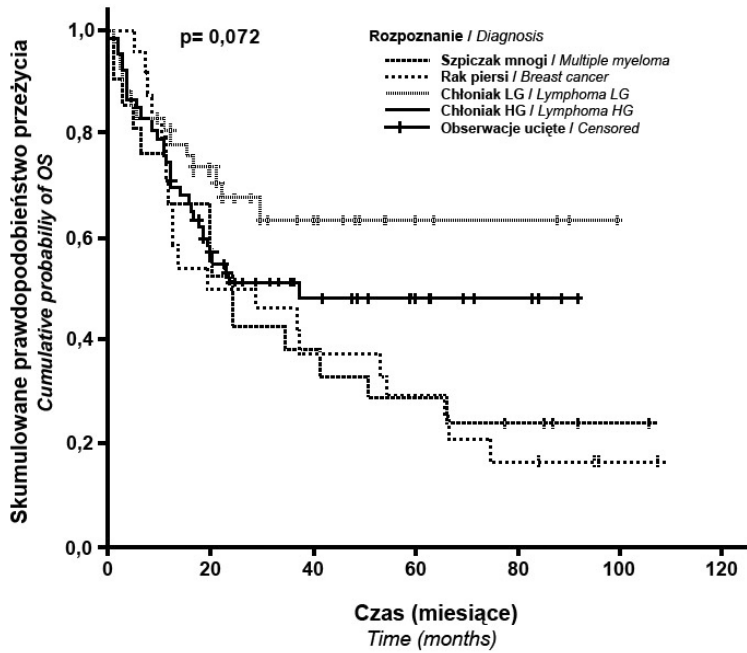
Fig. 7. Probability of OS in patients with different HCT CI



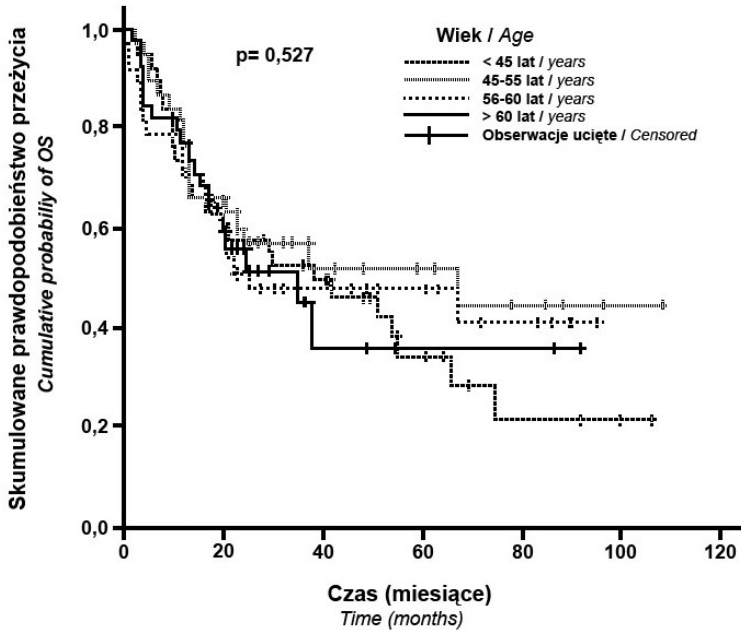
Ryc. 8. Prawdopodobieństwo przeżycia w zależności od stopnia zaawansowania choroby  
Fig. 8. Probability of OS in patients at different stages of the disease



Ryc. 9. Prawdopodobieństwo przeżycia w zależności od płci  
Fig. 9. Probability of OS according to gender



Ryc. 10. Prawdopodobieństwo przeżycia w zależności od rozpoznania  
 Fig. 10. Probability of OS according to the diagnosis



Ryc. 11. Prawdopodobieństwo przeżycia w zależności od wieku  
 Fig. 11. Probability of survival according to the patients' age

---

## 6. DYSKUSJA

Leczenie mieloablacyjne z udziałem chemioterapii w wysokich dawkach lub TBI z przeszczepieniem autologicznych komórek krwiotwórczych stosowane jest w zaawansowanych nowotworach o niekorzystnym rokowaniu od niemal 40 lat. Od 1985 roku liczba wykonywanych rocznie na świecie autoHCT wzrosła od kilkudziesięciu do ponad 30 tysięcy. I choć w ostatnich latach, z powodu malejącej liczby wykonywanych autoHCT w raku piersi, wzrost ten był nieco niższy niż poprzednio, zainteresowanie metodą nie słabnie. W szczególnie opornych nowotworach duże nadzieje wiąże się z nowymi lekami z grupy przeciwciał lub inhibitorów małych cząstek. Wyniki dotychczasowych badań wskazują na możliwość przekształcenia choroby o agresywnym przebiegu w proces przewlekły. Nadal jednak jest miejsce dla mieloablacyjnego leczenia wysokodawkowanego, a nowe leki wykorzystuje się w celu lepszego doboru chorych przed autoHCT i/lub w leczeniu podtrzymującym.

Wyniki niniejszej pracy wskazują, że leczenie z udziałem autoHCT jest szansą dla wielu chorych na chłoniaka, szpiczaka mnogiego (pod warunkiem przeprowadzenia leczenia tandemowego), a nawet na uogólnionego mięsaka Ewinga.

Metoda autoHCT jest względnie bezpieczna, jednak podwyższanie dawki wiąże się ze wzrostem ryzyka powikłań. Śmiertelność okołoprzeszczepowa z powodu niepożądanych skutków terapii nie przekracza w najlepszych ośrodkach 5%. U podłoża tych powikłań leży najczęściej uszkodzenie śródbłonna naczyń krwionośnych w procesie uogólnionej reakcji zapalnej – SIRS (*systemic inflammatory response syndrome*). W procesie tym uszkodzone pod wpływem chemioterapii lub napromieniania komórki narządów mięsaszowych są źródłem cytokin (hypercytokinemia) o charakterze prozapalnym, a te z kolei potęgują uszkodzenie poszczególnych narządów lub wielu różnych narządów jednocześnie, jak w zespole MOF. Konieczne jest więc znalezienie takich metod, w których ryzyko poważnych objawów niepożądanych nie zniweczy spodziewanej korzyści.

Istnieje także konieczność określenia wszystkich możliwych efektów niepożądanych leczenia, znalezienie metod ich zapobiegania i leczenia oraz zdefiniowania czynników wpływających na ryzyko zgonu u chorych bez nawrotu. Czynniki te mogą ułatwić kwalifikację chorych do autoHCT i wybór sposobu kondycjonowania.

### 6.1. Tolerancja i skuteczność kondycjonowania bez udziału TMI

Analiza porównawcza dwóch sposobów kondycjonowania bez udziału TBI wykazała podobny odsetek obiektywnych odpowiedzi (łącznie CR i PR); odpowiednio 89% i 72% dla schematów BuMeITT i BEAM ( $p=0,073$ ). W

grupie otrzymującej schemat BEAM znamienne więcej było chorych w starszym wieku, bardziej obciążonych chorobami współistniejącymi, z gorszym stanem sprawności, natomiast zaawansowanie choroby przed przeszczepieniem (LDH, IPI/FLIPI, cecha „bulky”) było w obu grupach podobne. W obu grupach podobny był także udział chorych z nowotworem w fazie chemiooporności czy z brakiem CR po leczeniu indukcyjnym, które uważane są za najważniejsze czynniki rokownicze [170-172]. Pod wpływem schematu BuMelTT uzyskano wyższy wskaźnik CR (57% w porównaniu do 30% u chorych leczonych schematem BEAM;  $p < 0,003$ ). W grupie chorych o najmniej korzystnym rokowaniu, z pierwotną bądź wtórną chemioopornością, udział CR pod wpływem schematu BuMelTT był także znamienne wyższy (55% w porównaniu do 25% u chorych leczonych schematem BEAM;  $p < 0,008$ ). Wyższy odsetek CR nie był jednak związany z wydłużeniem PFS czy OS. Obok wieku i HCT-CI, niezależnym czynnikiem znamienne związanym z ryzykiem zgonu okazał się także rodzaj kondycjonowania. Leczeniu schematem BuMelTT towarzyszyła znamienne wyższa toksyczność. Zgony z powodu powikłań leczenia w okresie okołotransplantacyjnym wystąpiły wyłącznie u chorych poddanych kondycjonowaniu schematem BuMelTT (10%). Przyczyną braku znamiennej różnicy w PFS i OS, pomimo znamienne wyższego udziału CR, może być wyraźnie wyższa toksyczność schematu BuMelTT (większe ryzyko RRT i TRM). Podobne były wyniki opublikowanego niedawno badania porównującego standardowe i wysokie dawki etopozydu w schemacie BEAM [171]. W niniejszym materiale mediana czasu przeżycia wynosiła 48 miesięcy (29 miesięcy dla BEAM i 53 dla BuMelTT), a 3-letni RFS – odpowiednio 28 i 50%. Różnice te nie były znamienne, a w analizie wieloczynnikowej po uwzględnieniu wieku, IPI i chemiooporności, ryzyko zgonu, progresji lub nawrotu było dla obu grup podobne. W opublikowanych dotychczas badaniach innych autorów udział 3-letniego RFS waha się w granicach od 35 do 70% [93, 171, 173-178]. Udział 3-letniego RFS w grupie chorych leczonych schematem BEAM był w niniejszej analizie niższy niż w badaniu Martin i wsp. (odpowiednio 28% i 58%) [171]. Porównanie takie jest jednak trudne, ponieważ w niniejszym materiale znacznie wyższy był udział chorych leczonych w fazie nowotworu chemioopornego (41% w porównaniu do 15%) [171]. Cecha ta, obok histologicznej złośliwości, obecności dużej masy guza, wysokiego IPI/FLIPI i starszego wieku, jest jednym z najważniejszych niekorzystnych czynników rokowniczych [88, 172, 179]. Przedstawione wyniki wykazały skuteczność HDC z auto HCT także u chorych z opornym nowotworem i po przebytych leczeniu z udziałem przeciwciał monoklonalnych anty CD20. Przy kwalifikacji chorych do leczenia należy jednak uwzględnić nie tylko czynniki rokownicze związane z samą chorobą, ale także z wiekiem, stanem sprawności i obecnością chorób współistniejących.

## 6.2. Powikłania płucne

Wśród przyczyn zgonów na pierwszym miejscu znalazły się powikłania ze strony płuc: ARDS, idiopatyczne zwłóknienie płuc, DAD współistniejące z SOS (MOF) oraz SOS, zatrzymanie akcji serca i grzybica układowa. Ryzyko zgonu z powodu powikłań leczenia było podobne jak w innych badaniach [93, 175, 178, 180-182]. Śmiertelne uszkodzenie płuc mogło być wynikiem toksyczności busulfanu zastosowanego samodzielnie lub w połączeniu z melfalanem. Od lat 60. pisano o „płucu busulfanowym” [183]. jako następstwie wielomiesięcznego stosowania leku. Biodostępność busulfanu podawanego doustnie wykazuje wykazuje osobniczą zmienność. W związku z tym można byłoby sądzić, że śmiertelne uszkodzenie płuc może dotyczyć chorych, u których wariant metabolizmu spowodował zwiększenie AUC i tym samym nasiloną toksyczność [184]. W przypadku omawianej grupy chorych efekt ten był jednak zmniejszony do minimum w związku ze stosowaniem kontrolowanej dawki busulfanu (ocenę farmakokinetyki przeprowadzono po pierwszej dawce) [185]. Być może powikłania płucne były wynikiem kumulacji toksyczności busulfanu i melfalanu. Kojarzenie busulfanu z melfalanem jest powszechnie uważane za bezpieczne [186], opisywano jednak pojedyncze przypadki powikłań płucnych po stosowaniu tego schematu [187, 188].

W niniejszym materiale 3 chorych otrzymało napromienianie dużych obszarów przed transplantacją. W innych badaniach porównujących kondycjonowanie z udziałem lub bez udziału TBI sugerowano, że przebyte napromienianie typu IF (*involved field*) zwiększa ryzyko śmiertelnych powikłań po transplantacji, choć hipotezy tej nie udało się udowodnić [181, 182, 189-192]. W całej analizowanej grupie chorych odnotowano 34% zgonów (wczesnych i późnych) z przyczyn innych niż nawrót lub progresja. W grupie z HCT-CI =0 lub 1, bez obciążenia przewlekłymi chorobami internistycznymi, zgony z przyczyn innych niż nawrót lub progresja odnotowano u chorych w starszym wieku (>65 lat), po przebytych napromienianiu okolicy klatki piersiowej albo jamy brzusznej. W grupie leczonej BuMeITT było tylko 3% chorych z HCT-CI  $\geq 3$  i wszyscy zmarli bez nawrotu nowotworu. W przeciwieństwie do tego, po kondycjonowaniu BEAM wszystkie zgony były spowodowane nawrotem lub progresją choroby zasadniczej, nie wyłączając chorych z HCT-CI  $\geq 3$ . Ze względu na małe liczebności trudno jest wyciągać jednoznaczne wnioski, jednak można sądzić, że względnie niska toksyczność schematu BEAM stosowanego w kondycjonowaniu pozwala stosować go u chorych starszych i obciążonych przewlekłymi schorzeniami internistycznymi.

### 6.3. Tolerancja i skuteczność leczenia tandemowego z udziałem TMI

Przeprowadzona analiza wskazuje, że leczenie tandemowe obejmujące kondycjonowanie BuMeIT z planowym drugim kondycjonowaniem TMI jest względnie skuteczne, a jego toksyczność jest akceptowalna. Warunkiem powodzenia takiego leczenia było jednak nieprzekroczenie dawki TMI 13,5 Gy, odpowiadającej maksymalnej dawce tolerancji. Zastosowanie przedstawionej w pracy osłony płuc i części wątroby miało w założeniu umożliwić podanie wyższej dawki całkowitej TMI, a tym samym zwiększyć skuteczność leczenia. Modyfikacja ta nie zapobiegła jednak śmiertelnym powikłaniom, głównie płucnym, u chorych napromienianych dawką 15 Gy. Powikłania płucne spowodowane są głównie reakcją typu GVHD – częstą przyczyną zgonów i poważnego inwalidztwa chorych po przeszczepieniach allogenicznym [27, 193-195]. Uszkodzenie płuc po autoHCT zależy przede wszystkim od sposobu kondycjonowania. W przypadku TBI powikłania te związane są ze sposobem frakcjonowania, średnią dawką na płuca i mocą dawki [22, 24, 26, 196-200], a w przypadku stosowania pneumotoksycznych cytostatyków – z rodzajem i dawką leku oraz osobniczo zmiennym metabolizowaniem leków [25, 201, 202]. Opisano wiele różnych zespołów klinicznych w tym BOOP, DAD, DAH, idiopatyczne zapalenie płuc, nadciśnienie płucne w przebiegu płucnej choroby wenookluzyjnej (PVOD) [203-206]. Przed kwalifikacją do leczenia z udziałem autoHCT konieczna jest zatem ocena parametrów wydolności oddechowej (PFT) [207]. W niniejszej pracy, pomimo prawidłowych wartości PFT u wszystkich chorych, uszkodzenie układu oddechowego stanowiło najpoważniejsze powikłanie. Najmniej toksyczne dla płuc okazało się leczenie schematem BEAM, pomimo zawartego w jego składzie BCNU, leku o znanym działaniu pneumotoksycznym [208, 209]. W tej grupie nie odnotowano zgonów toksycznych, ale u 16% pacjentów doszło do uszkodzenia 2. stopnia według skali Bearmana, tj. nie wymagającego tlenoterapii ani mechanicznej wentylacji. Wydaje się, że BCNU w dawce  $\leq 300 \text{ mg/m}^2$  nie stwarza wysokiego ryzyka śmiertelnego uszkodzenia płuc. Natomiast lek ten w wyższych dawkach jest przyczyną powikłań płucnych ujawniających się najczęściej po 6.–12. tygodniach od transplantacji [210, 211]. Po kondycjonowaniu schematem BuMeIT (bez udziału napromieniania) ostre uszkodzenie płuc wystąpiło u 13 chorych (22%), w tym u 3 (5%) – w 4. stopniu nasilenia. Najpewniej był to niepożądany efekt busulfanu, choć znamionym czynnikiem ryzyka było przebyte napromienianie okolicy klatki piersiowej. W przeciwieństwie do odczynu ostrego, do późnej niewydolności oddechowej dochodziło częściej po leczeniu BEAM (u 14% chorych) niż BuMeIT (u 4% chorych). Można to tłumaczyć tym, że wczesne powikłania po BuMeIT miały najczęściej ciężki, niekiedy śmiertelny przebieg, zatem prawdopodobieństwo późnych powikłań było względnie mniejsze. Od lat uważano, że ciężkie uszkodzenie płuc po



autoHCT jest wynikiem stosowania TBI. Ostre popromienne uszkodzenie płuc może wystąpić po kilku dniach od leczenia, natomiast późne - zazwyczaj po około 6 miesiącach [27, 212]. Już w latach 80. stwierdzono, że niewielki wzrost dawki całkowitej na płuca (np. z 12 do 13,5 Gy) może spowodować wzrost ryzyka popromiennego zapalenia płuc z 5 do 50% [213]. Analiza 217 chorych leczonych z udziałem TBI w ośrodkach niemieckich wykazała, że obniżenie dawki na płuca z 12 Gy do 11 Gy, z konwencjonalnym frakcjonowaniem, obniżyło ryzyko popromiennego śródmiąższowego zapalenia płuc z 20,7% do 9% [196, 197]. Dyskutowana jest optymalna energia promieniowania, moc dawki, pozycjonowanie chorego (napromienianie z pól bocznych lub AP/PA) i sposobu frakcjonowania [214-217]. Ustalono natomiast, że jednorazowa dawka progowa poniżej której nie ma ryzyka uszkodzenia płuc wynosi 7 Gy. Dawka, po której u 5% chorych dochodzi do popromiennego zapalenia płuc ( $TD_5$ ) wynosi 8,2 Gy,  $TD_{50}$  – 9,3 Gy a  $TD_{90}$  – 11 Gy [218, 219]. Celem modyfikacji techniki napromieniania polegającej na wprowadzeniu osłon płuc było znaczące obniżenie ryzyka uszkodzenia tego narządu, co pozwoliło podwyższyć całkowitą dawkę TMI ponad standardowo stosowane 12 Gy. Pomimo rygorystycznego przestrzegania ograniczeń DVH w odniesieniu do dawki fizycznej dla płuc, w niniejszym materiale stwierdzono związany z dawką wzrost ryzyka śmiertelnych powikłań płucnych. W grupie chorych leczonych TMI w dawce 15 Gy, odpowiadającej biologicznemu równoważnikowi dawki 16,92 ( $V_{70} \leq 13,5$  Gy), stwierdzono 24% zgonów.

Powikłania późne stwierdzono u 40% chorych leczonych dawką 12 Gy ( $BED = 15,96$  Gy;  $V_{70} \leq 13,39$  Gy), u 14% leczonych dawką 13,5 Gy ( $BED = 17,94$  Gy;  $V_{70} \leq 15,05$  Gy) i u 43% leczonych dawką 15 Gy ( $BED = 19,94$  Gy;  $V_{70} \leq 16,72$  Gy). Przedstawione wyniki wskazują, że BED lepiej niż dawka fizyczna określa ryzyko poważnych powikłań po leczeniu, a napromienienie 30% objętości płuc dawką biologiczną powyżej 13 Gy wiąże się z nadmiernym ryzykiem powikłań płucnych, zwłaszcza w leczeniu tandemowym. Wykazano także, że obniżenie dawki frakcyjnej nie poprawia tolerancji leczenia. Wiadomo, że hiperfrakcjonowanie nasila objawy ostrej reakcji popromiennej w tkankach hierarchicznych (H) [220-222]. Płuca uznawane są za narząd reagujący zarówno wczesną, jak i późną reakcją popromienną. Możliwe jest więc zwiększenie ryzyka ostrego zapalenia płuc przez hiperfrakcjonowanie. Być może także MTD dla płuc jest niższa u chorych wcześniej leczonych niektórymi cytostatykami lub innymi lekami pneumotoksycznymi. Niestety na podstawie przedstawionych wyników oraz danych z piśmiennictwa żadnej z tych hipotez nie można udowodnić. Znaczenie biologicznie równoważnej dawki TBI przedstawiono w pracy Kal i wsp., obejmującej retrospektywną analizę 15 badań z zastosowaniem różnych schematów TBI przed allotransplantacją [163]. Na podstawie zawartych tam danych oszacowano i porównano BED dla różnych technik TBI. W trzech badaniach wykazano wyższe [15, 17, 21], a w pięciu niższe [17, 20, 223-225]. ryzyko śmiertelnych powikłań płucnych dla schematów o wysokiej BED w

porównaniu ze schematami o niskiej BED. Jednocześnie OS był znamienne dłuższy w przypadku schematów o wysokiej BED [15, 17, 20, 21, 223-225]. Wyników uzyskanych w niniejszej rozprawie nie można jednak porównać z wynikami przedstawionymi przez Kal i wsp. chociażby z powodu różnic w materiale przeszczepowym – w niniejszej pracy autologiczny bądź syngeniczny, a w pracy Kal i wsp. – allogeniczny [163]

Przedstawione dane wskazują, że leczenie tandemowe, w którym kondycjonowanie polega na zastosowaniu chemioterapii przed pierwszym, a TMI – przed drugim autoHCT, jest możliwe pod warunkiem nieprzekroczenia dawki TMI 13,5 Gy. Powikłania płucne, zarówno po kondycjonowaniu bez udziału TMI, jak i po TMI, były główną przyczyną zgonów w okresie okołoprzeszczepowym, także u chorych bez cech niewydolności w badaniach czynnościowych układu oddechowego przed autoHCT. Ryzyko to było szczególnie wysokie u chorych po przebytych napromienianiu okolicy śródpiersia, płuc i ściany klatki piersiowej.

#### **6.4. Powikłania ze strony układu krążenia**

Ostre powikłania ze strony układu krążenia wystąpiły u 11% ogółu chorych. Najczęściej (u 6% chorych) miały one postać łagodnych zaburzeń rytmu serca. U 5% chorych wystąpiły ciężkie powikłania w tym jedno śmiertelne po kondycjonowaniu BuMeIT. Podobnie jak w przypadku powikłań płucnych, nie wykazano zależności pomiędzy ryzykiem uszkodzenia serca a nieprawidłowym wynikiem LVEF, z drugiej strony do transplantacji nie kwalifikowano chorych z EF <50% (EF przed leczeniem dla całej grupy 164 chorych wynosiła 58–74%, mediana 67%). W badanej grupie nie było też chorych leczonych wcześniej doksorubicyną w dawce >340 mg/m<sup>2</sup>, natomiast w 4 przypadkach rozpoznano wady serca. W późnym okresie po leczeniu jeden chory zmarł z powodu zawału mięśnia sercowego, a u drugiego ujawniła się wada serca – niedomykalność zastawek dwudzielnej i trójdzielnej o trudnej do wyjaśnienia etiologii. Mniej groźnym, aczkolwiek wymagającym leczenia powikłaniem, było nadciśnienie oraz zaburzenia rytmu serca; każde z nich wystąpiło u 7% chorych. Ze względu na charakter analizy oraz względnie dużą częstość występowania chorób układu krążenia, nie można jednoznacznie wykazać związku przyczynowo-skutkowego późnych powikłań kardiologicznych z zastosowanym leczeniem.

#### **6.5. Zespół zatokowej niedrożności wątroby**

Częstym powikłaniem okresu okołoprzeszczepowego była niewydolność wątroby z objawami spełniającymi kryteria rozpoznania SOS (dawniej VOD): stężenie bilirubiny w surowicy  $\geq 2$  mg/dL, zwiększenie masy ciała o  $\geq 2.5\%$  w

stosunku do wartości sprzed leczenia, hepatomegalia i/lub ból w okolicy wątroby w pierwszych 3 tygodniach po transplantacji [226]. Powikłanie to wystąpiło u 17% chorych, w tym u 5% w stopniu ciężkim. Wymieniony zespół objawów powstaje w następstwie zaciopowania naczyń zatokowych wątroby rozpadającymi się hepatocytami i erytrocytami, a w dalszym okresie - zwłóknienia okołonaczyniowego. Przyczyną SOS mogą być wszystkie czynniki hepatotoksyczne lub działające szkodliwie na naczynia krwionośne. W dotychczasowych doniesieniach zwracano szczególną uwagę na takie czynniki ryzyka SOS, jak chemioterapia z udziałem busulfanu, BCNU, etopozydu i cyklofosfamidu, przebyte leczenie wankomycyną, acyklowirem, amfoterycyną, TBI w dawkach >12 Gy, przebyte napromienianie jamy brzusznej, czy zapalenie wątroby w wywiadzie, wiek >20 lat i zły stan sprawności przed autoHCT [227-229].

W przedstawionym materiale u 28% poddanych kondycjonowaniu schematem BuMeITT doszło do uszkodzenia wątroby, w tym u 9% – w stopniu ciężkim. Po TMI uszkodzenie wątroby stwierdzono u 9% chorych (u jednego – po dawce 12 Gy, u jednego – po 13,5 Gy i u 4 – po dawce 15 Gy), w tym u jednego chorego był to ciężki SOS w zespole MOF. Ryzyko zgonu z powodu SOS w całej analizowanej grupie wyniosło 45%. Nie stwierdzono natomiast ani jednego przypadku choćby łagodnych zaburzeń funkcji wątroby po kondycjonowaniu schematem BEAM. Wyniki te nie odbiegają znacząco od przedstawianych we wcześniejszych doniesieniach, w których SOS stwierdzono u 20–70% chorych, a ciężki SOS – u 5–27% [227, 230-233]. Uzyskane w pracy wyniki wskazują, że głównym czynnikiem ryzyka SOS było zastosowanie busulfanu przed przeszczepieniem ( $p < 0,0001$ ) oraz przebyte zapalenie wątroby ( $p < 0,0001$ ). Jest to zgodne z doniesieniami innych autorów [184, 229, 234-238]. Busulfan jest eliminowany z ustroju przez wątrobę i w niewielkim stopniu przez nerki – w postaci skoniugowanej ze zredukowanym glutationem (GSH). Skuteczność tego procesu zależy od wytwarzania GSH przez komórki wątrobowe [239]. Przy stosowaniu wysokich dawek wytwarzanie GSH jest niewystarczające i objawy toksyczne są bardziej nasilone. Tłumaczy to wybitną hepatotoksyczność tego leku. W przedstawionej grupie u żadnego chorego nie stwierdzono opisywanej w innych doniesieniach martwicy hepatocytów po stosowaniu BCNU. BCNU stosowano jednak w dawce  $300 \text{ mg/m}^2$ , podczas gdy dla dawki  $<1200 \text{ mg/m}^2$  ryzyko ostrej martwicy wątroby jest znikome (około 3%). Dopiero po dawce  $\geq 1500 \text{ mg/m}^2$  uszkodzenie wątroby występuje u ponad 35% chorych [240, 241]. Pomimo że wśród chorych, u których doszło do SOS były przypadki uszkodzenia poalkoholowego oraz wcześniejszego napromieniania jamy brzusznej, ich wpływ był nieznamienny, prawdopodobnie z powodu zbyt małej liczby zdarzeń. Natomiast względnie niskie ryzyko SOS po TMI, pomimo eskalacji dawki powyżej 12 Gy, było najpewniej efektem wprowadzenia osłony wątroby, co pozwoliło obniżyć zarówno dawkę fizyczną, jak i BED. Komórki śródbłonna są kilkakrotnie bardziej wrażliwe na

napromienianie niż hepatocyty. Po napromienieniu są one także bardziej podatne na uszkodzenia przez leki cytotoksyczne. Kondycjonowanie, w którym chemioterapię kojarzy się z TBI, może być bardziej hepatotoksyczne niż każda z tych metod stosowana oddzielnie [228]. Nie wykazano związku SOS z wiekiem ani ze stanem sprawności.

## 6.6. Niewydolność nerek

Przewlekła niewydolność nerek (CRF), która objawia się nagle lub stopniowo niedokrwistością, azotemią, białkomoczem i nadciśnieniem tętniczym, występuje jako powikłanie leczenia mieloablacyjnego u około 20-25% dorosłych i 60% dzieci [242-245]. Za główny czynnik ryzyka potransplantacyjnego uszkodzenia nerek uznawane są TBI, reakcja typu GVH, wystąpienie ostrej niewydolności nerek we wczesnym okresie poprzyszczepowym oraz stosowanie leków przeciwgrzybiczych i inhibitorów kalcineuryny (cyklosporyna, takrolimus) [242, 245]. W niedawno opublikowanym badaniu obejmującym 1635 chorych leczonych z udziałem HCT (1319 – allogenicznym i 316 – autologicznym), z których u 23% doszło do przewlekłej niewydolności nerek, analiza wieloczynnikowa ujawniła następujące czynniki ryzyka: płeć (żeńską – HR 1,9), wystąpienie ostrej niewydolności nerek po przeszczepieniu (HR 1,6), oraz wystąpienie i stopień nasilenia GVHD (HR odpowiednio 1,9 i 3,1). W analizie tej nie wykazano natomiast niekorzystnego wpływu TBI w dawce od 2 do 16 Gy (HR 1,1) [245]. Podobne wyniki uzyskali Borg i wsp. [246] – jeden przypadek (15%) popromiennej nefropatii po TBI w dawce 12 Gy w 6 frakcjach w grupie 59 chorych. W dotychczasowych doniesieniach dotyczących nefropatii potransplantacyjnej nie analizowano odrębnie chorych po auto- i allotransplantacjach. Poza tym nie brano pod uwagę różnic w schematach TBI wynikających z mocy dawki, frakcjonowania, dawki frakcyjnej czy dawki całkowitej. W celu porównywania różnych schematów TBI najlepiej byłoby posługiwać się BED. Dotychczas opublikowano jednak zaledwie kilka prac, w których retrospektywnie obliczono BED dla różnych narządów [163, 169, 247]. Dawka tolerancji, po której ryzyko nefropatii nie przekracza 5% wynosi 23 Gy podane w jednej frakcji w przypadku napromieniania jednej nerki i 20 Gy podane w jednej frakcji w przypadku napromieniania obu nerek [248]. Dawka tolerancji po frakcjonowanym konwencjonalnie TBI jest niższa i wynosi 14 Gy dla dorosłych i 12 Gy dla dzieci [246, 249]. Wpływ frakcjonowania nie został w pełni zweryfikowany. Natomiast obliczona na podstawie 11 opublikowanych doniesień dawka tolerancji BED, dla której ryzyko nefropatii jest bliskie zera, wynosi  $\leq 16$  Gy [247]. Dla BED 21-22 Gy, ryzyko nefropatii zawarte jest w granicach 10-47% [242, 244, 246, 249-251]. Szacunki te potwierdzają wyniki uzyskane w niniejszej pracy - przewlekłą niewydolność nerek (CRF) stwierdzono u 12%

chorych leczonych z udziałem TMI. Brak różnic w ryzyku CRF w trzech grupach otrzymujących kolejne dawki TMI najlepiej tłumaczą obliczenia BED. Wartość ta dla późnej nefropatii popromiennej w grupie 12 Gy, 13,5 Gy i 15 Gy wynosiła odpowiednio 18,89 Gy, 21,24 Gy i 23,6 Gy. Oznacza to, że była ona wyższa od wartości BED 16 Gy uznanej za maksymalną biologiczną dawkę tolerancji przy napromienianiu obejmującym w całości obie nerki [247]. Tarbell i wsp. opisali u dzieci wyjątkowo wysokie, bo wynoszące 47% ryzyko CRF dla BED 21,7 Gy. Można sądzić, że powodem tego była inna wrażliwość na promieniowanie nerek w wieku dziecięcym i/lub częstsze stosowanie cyklosporyny oraz amfoterycyny B w grupie chorych leczonych z udziałem transplantacji allogeniczej [251].

Mechanizm nefropatii potransplantacyjnej u dorosłych jest znacznie bardziej złożony. Mają tutaj wpływ także inne czynniki, w tym między innymi współistniejące nadciśnienie tętnicze lub cukrzyca, choroby naczyniowe, zakażenia, zaburzenia funkcji nerek w przebiegu szpiczaka, hiperkalcemia, niedokrwistość, czy białkomocz. W analizowanej grupie chorych we wczesnym okresie po transplantacji łagodne zaburzenia funkcji nerek (ze stężeniem kreatyniny w surowicy  $>1,2$  i  $\leq 2$  mg/dL) wystąpiły u 17% chorych po kondycjonowaniu schematem BuMelTT, u 20% chorych po kondycjonowaniu schematem BEAM i u 9% chorych po TMI, i to wyłącznie po dawce całkowitej 15 Gy. CRF rozpoznano u 7% chorych w grupie BEAM i u wspomnianych wcześniej 12% chorych po TMI (różnica NS;  $p=0,18$ ). Prawdopodobnie z powodu zbyt małej liczby zdarzeń nie wykazano opisanej przez innych autorów zależności ryzyka CRF od wystąpienia ostrych powikłań nerkowych, czy nadciśnienia [245, 246, 249].

Wczesne powikłania nerkowe mogą się nasilać w przypadku równoczesnego stosowania wielu potencjalnie nefrotoksycznych leków, w tym leków przeciwgrzybiczych [249]. Zwraca uwagę występowanie zarówno ostrych, jak i późnych powikłań nerkowych po kondycjonowaniu schematem BEAC (BCNU, etopozyd, arabinozyd cytozyny i cyklofosfamid). Dotychczas opisywano wysokie ryzyko CRF po leczeniu z udziałem BEAC w skojarzeniu z TBI w pojedynczej dawce 7,5 Gy [242, 252]. Nie ustalono dokładnej przyczyny tego zjawiska, natomiast badania histopatologiczne biopsji nerek wykazywały zmiany typowe dla reakcji typu odrzucania przeszczepu: stwardnienie kłębuszków, atypię i zwapnienia nabłonka cewek, zapalenie cewek i zwłóknienie śródmiąższowe [253]. Podobny obraz morfologiczny stwierdzono w badanej grupie u chorych z CRF, w tym u chorych, którzy nie otrzymali TMI. Opiswane zmiany, podobnie jak w innych doniesieniach, rozpoznawano po 6. do 24. miesiącach od transplantacji (najczęściej 12 miesięcy). Można więc sądzić, że cytostatyki wywołują podobne zmiany patomorfologiczne jak promieniowanie jonizujące.

## 6.7. Ryzyko MDS i nowotworów wtórnych

W wielu dotychczas opublikowanych badaniach podkreśla się wzrost zapadalności na wtórne białaczki i zespoły mielodysplastyczne (MDS) po leczeniu mieloablacyjnym. Wśród czynników ryzyka powstania MDS wymienia się wiek (>35 lat) [254-258], liczbę schematów i cykli chemioterapii przed transplantacją [256, 259, 260], czas od rozpoznania do autoHCT [256, 261], stosowanie leków alkilujących [97, 262], stosowanie etopozydu [263,264], przebytą radioterapię [261, 263], udział TBI [97, 254, 256, 258, 259, 262, 264], opóźnione przyjęcie przeszczepu [265-267] i – w odniesieniu do chłoniaków – chemiooporność [255, 259]. U chorych na raka piersi leczonych z udziałem autoHCT rzadziej niż w innych nowotworach obserwuje się wtórne MDS [268, 269], co być może wynika z krótkiego czasu przeżycia tych chorych albo ze względnie niewielkiej intensywności standardowej chemioterapii przed autoHCT. Większość wtórnych białaczek ujawnia się po 5–7 latach od HCT. Jedynie po etopozydzie do MDS dochodzi już nawet po 2–3 latach, a dodatkową charakterystyczną cechą tej choroby jest aberracja 11q23 [270]. W analizowanej grupie chorych stwierdzono trzy przypadki MDS, wszystkie po leczeniu tandemowym z udziałem TMI. Jeden przypadek dotyczył 59-letniej kobiety chorej na szpiczaka, u której MDS rozpoznano 40 miesięcy po transplantacji. Drugi przypadek wystąpił u 7-letniego chłopca z mięsakiem Ewinga, który przeszedł bardzo intensywne leczenie z udziałem etopozydu przed transplantacją i był dwukrotnie napromieniany: na okolicę łoży po guzie pierwotnym i guzie przerzutowym. Typowy dla etopozydu MDS z charakterystyczną aberracją 11q23 ujawnił się w 3 lata po transplantacji. Trzeci zespół MDS rozpoznano u chorej na szpiczaka w chwili nawrotu choroby zasadniczej. Nie rozstrzygnięto czy było to powikłanie leczenia, czy wynik rozwoju choroby. Co ciekawe, wśród 107 chorych na chłoniaka, u których zastosowano leczenie mieloablacyjne z zastosowaniem schematu BuMeITT lub BEAM z autoHCT, nie stwierdzono żadnego przypadku wtórnego MDS. Być może wynika to ze zbyt krótkiego czasu obserwacji (mediana 4 lata), bowiem zespół ten może się rozwijać także w późniejszych latach. Ocenę późnych powikłań utrudniła także śmiertelność okołoprzeszczepowa oraz zgony z powodu nawrotów lub powikłań kolejnych linii leczenia.

W przedstawionym materiale rozpoznano trzy przypadki wtórnych guzów litych (raka skóry, płuca i szyjki macicy), wszystkie we wczesnym stopniu zaawansowania, umożliwiającym radykalne leczenie operacyjne.

## 6.8. Inne powikłania

Do innych częstych powikłań TMI należała zaćma, która pod koniec drugiego roku obserwacji rozwinęła się u 22% chorych. W innym badaniu po

zastosowaniu TBI w dacie 11 Gy opisywano niższe ryzyko zaćmy – 5% i 15% odpowiednio u dorosłych i u dzieci [196]. Wpływ przebytego napromieniania na rozwój zaćmy jest znany od dawna. Natomiast zależność ryzyka zaćmy od BED podanej na soczewki jest mniej poznana. W pracy van Kempen i wsp [169], wykazano istotny wzrost ryzyka zaćmy po zastosowaniu BED wyższych od 40-45 Gy, jednocześnie stwierdzając, że dla BED niższych od 40 Gy ryzyko to jest znikome. Wydaje się, że w przedstawionej w niniejszej pracy grupie chorych podobnie jak w innych badaniach na rozwój zaćmy miały wpływ także inne czynniki, jak sterydoterapia, czy podawanie heparyny po transplantacji, choć nie udało się tego potwierdzić ze względu na niewielką liczbę zdarzeń [169]. We wszystkich przypadkach zaćmy zastosowano leczenie operacyjne, po którym nie było poważnych powikłań. Z innych powikłań okulistycznych należy wymienić zespół suchego oka, który rozpoznano u 12% chorych. Po alloHCT zespół ten jest jednym z objawów przewlekłej choroby GVH. Natomiast po przeszczepieniach autologicznych suchość oka jest najczęściej wynikiem przebytej radioterapii lub rzadziej – reakcji o charakterze *pseudoGVH*. Nie jest znany dokładny mechanizm reakcji *pseudoGVH*, jednak typowy dla allotransplantacji obraz zmian histologicznych typu „przeszczep przeciw gospodarzowi” stwierdza się także u części chorych po przeszczepach syngenicznych i autologicznych [271]. Nacieki limfoplazmocytarne lub mikroangiopatia zakrzepowa najczęściej tworzą się w błonie śluzowej przewodu pokarmowego, czemu towarzyszą objawy zapalenia błon śluzowych żołądka i jelit (*gastroenteritis*), takie jak bóle brzucha i zespoły biegunkowe. Możliwe jest także zajęcie przez ten proces skóry, spojówek, gruczołów ślinowych lub innych narządów. W badanej grupie u 30% chorych rozpoznano i potwierdzono histologicznie w wycinkach z błony śluzowej przewodu pokarmowego reakcję *pseudoGVH*, najczęściej po kondycjonowaniu schematem BuMeIT (u 46% chorych) i po TMI (u 28% chorych), rzadziej po kondycjonowaniu schematem BEAM (u 12% chorych). Być może różnica ta ma związek z wyższą toksycznością schematu BuMeIT i leczenia z udziałem TMI w odniesieniu do błon śluzowych. U wszystkich chorych uzyskano ustąpienie objawów pod wpływem leczenia steroidami.

Wszystkie kobiety w wieku przedmenopauzalnym przeszły klimakterium, a u dzieci konieczna była substytucja hormonalna w celu zapewnienia prawidłowego rozwoju. Dzieci, które były leczone przed okresem pokwitania, miały niedobór wzrostu (w zakresie 25 percentyla), podobnie jak w innych badaniach [196]. Powikłania leczenia mieloablacyjnego u dzieci były opisywane także przez innych autorów [272]. Zaburzenia homeostazy hormonalnej, oprócz hormonów płciowych, dotyczyły także hormonów tarczycy. Najczęściej była to wymagająca krótkotrwałego leczenia odwracalna nadczynność tarczycy (z niskim stężeniem T3 i wysokim stężeniem tyroksyny), która przekształcała się w późniejszym okresie w niedoczynność tarczycy (po TMI u 15% chorych). Dysfunkcja tarczycy jest częstym powikłaniem po transplantacji, choć przede

wszystkim występuje po alloHCT oraz u dzieci i młodych dorosłych [273-276]. Najpewniej do uszkodzenia tarczycy dochodzi na podłożu reakcji immunologicznej z udziałem autoprzeciwciał przeciwarczycowych [273].

Podobnie jak w innych doniesieniach dotyczących leczenia z zastosowaniem autoHCT najczęstszymi powikłaniami niezależnie od sposobu kondycjonowania były infekcje. Niestety dokładna analiza przyczyn zakażeń rzadko bywa przedstawiana szczegółowo. Dodatkowo porównanie uzyskanych wyników z przedstawianymi przez innych badaczy jest utrudnione z tego powodu, że ryzyko powikłań infekcyjnych zależy od doświadczenia danego ośrodka. W przedstawionej grupie chorych udokumentowane zakażenia wystąpiły u 16,5% chorych w grupie BuMeITT, u 29,5% w grupie BEAM i u 38% po TMI. Nawracające zakażenia, głównie wirusowe, wystąpiły u 13 chorych (32%). W jednym przypadku rozpoznano zespół Sweeta, w przebiegu którego chory zmarł. Szczególnie narażeni na zakażenia byli chorzy z długotrwałą limfopenią  $<0,8 \times 10^6$  /L. Natomiast zaburzenia hematologiczne pod postacią pancytopenii, neutropenii i trombopenii występowały rzadko, odpowiednio u 6 i 11%, 3 i 4% i 11 i 22% chorych po pojedynczej i tandemowej transplantacji. U 7 i 11% chorych po pojedynczej i tandemowej transplantacji rozwinęła się niedokrwistość (w tym odpowiednio w jednym i 3 przypadkach była to anemia hemolityczna). Powikłania zakrzepowo-zatorowe wystąpiły odpowiednio u 5 i 11% chorych. Trudno jest porównywać te dane z opublikowanymi przez innych autorów ponieważ stosowanie standardowych schematów kondycjonowania wiąże się z akceptowalnym ryzykiem nieprzyjęcia przeszczepu, a główny wpływ na obserwowane różnice ma dobór pacjentów.

Aż 56 chorych (34%) z całej grupy skarżyło się na przewlekłe zmęczenie. Z powodu depresji 6 chorych (15%) korzystało z leczenia psychiatrycznego. W każdym z tych przypadków depresję poprzedzały utrata pracy i pogorszenie sytuacji materialnej spowodowane samą chorobą lub jej leczeniem. Obserwacje te są zgodne z dotychczasowym, niestety niezbyt obszernym piśmiennictwem [277, 278]

## **6.9. Przydatność wskaźnika HCT-CI w ocenie ryzyka śmiertelnych powikłań po autotransplantacji**

Przydatność wskaźnika HCT-CI w szacowaniu NRM i w związku z tym kwalifikowaniu chorych do leczenia z udziałem autoHCT nie została dotychczas oceniona. Zagadnieniem znaczenia rokowniczego innych chorób poprzedzających lub współistniejących z chorobą zasadniczą zajmowano się od lat 70., a pionierami w tej dziedzinie byli Kaplan i Feistein [138]. Znacznie później opracowano wskaźnik obciążających chorób towarzyszących, przez wiele lat stosowany pod nazwą wskaźnika Charlson. Wskaźnik ten następnie zmodyfikowano, łącząc go z kryterium wieku (Charlson's CI, CCI) [145, 146].



Zainteresowanie tym problemem w odniesieniu do chorych onkologicznych i onkohematologicznych pojawiło się niedawno [144, 279-281]. W pierwszych doniesieniach zwracano uwagę, że obecność obciążających chorób towarzyszących sprzyja wcześniejszemu rozpoznawaniu np. raka płuca, ale jednocześnie zmniejsza szanse chorych z różnymi nowotworami na otrzymanie standardowego leczenia, a tym samym wpływa na czas przeżycia [282-285]. Przykładem są choćby chorzy na raka płuca w trakcie przewlekłej dializoterapii z powodu niewydolności nerek, którzy rzadko są kwalifikowani do standardowej chemioterapii. Ze względu na brak systemu klasyfikacji chorób towarzyszących zweryfikowanego w grupie chorych po transplantacji komórek krwiotwórczych, do roku 2005 nie było możliwe przeprowadzenie takiej analizy. Grupa z FHCRC zmodyfikowała, a następnie zweryfikowała skalę CCI [151, 286]. Modyfikację tę, opracowaną dla dużej grupy chorych poddanych alloprzeszczepieniom komórek krwiotwórczych po kondycjonowaniu mieloablacyjnym i/lub niemieloablacyjnym, nazwano swoistym dla HCT wskaźnikiem obciążających chorób towarzyszących (HCT-CI). Ze względu na niską wartość rokowniczą, z CCI wyłączono niektóre choroby np. astmę, krwawienia, bóle głowy, osteoartrozę i osteoporozę, natomiast dodano otyłość, zaburzenia psychiczne i zakażenia w okresie przed transplantacją. W ten sposób zamiast czteropunktowej CCI stworzono jedenastopunktową skalę HCT-CI, którą podzielono na trzy grupy: z niskim (0), pośrednim (1-2) i wysokim ( $\geq 3$ ) wskaźnikiem. Porównanie obu wskaźników wykazało, że u chorych po alloHCT wartość predykcyjna HCT-CI jest znamienne wyższa niż CCI. W niniejszej pracy po raz pierwszy przeprowadzono taką analizę w odniesieniu do chorych po autoHCT. Podobnie jak w doniesieniu Sorrow i wsp [151], do ciężkich chorób obciążających zaliczono umiarkowane i ciężkie choroby układu oddechowego, wady zastawkowe serca, choroby zapalne jelit, niemierności, przebyte choroby nowotworowe, chorobę wrzodową, cukrzycę i depresję. Analizę przeprowadzono w grupie 153 chorych w wieku powyżej 18 lat. Celowo wyeliminowano z analizy dzieci, ponieważ w całej grupie było ich zaledwie 11, a ponadto współistniejące przewlekłe schorzenia w tej grupie wiekowej występują bardzo rzadko. Analiza jednoczynnikowa wykazała, że u chorych bez nawrotu choroby obliczony HCT-CI związany jest z ryzykiem zgonu po transplantacji. Zależność tę potwierdzono w analizie wieloczynnikowej uwzględniającej dodatkowo sposób kondycjonowania, rozpoznanie, stopień zaawansowania choroby nowotworowej (w przypadku chłoniaków także IPI/FLIPI), wiek, płeć i stopień złośliwości histologicznej. Ryzyko zgonu z przyczyn innych niż nawrót choroby było w grupie chorych z HCT-CI  $\geq 3$  znamienne wyższe w porównaniu z chorymi z HCT-CI w zakresie od 0 do 2. Wynik ten wskazuje na istotne znaczenie HCT-CI przy kwalifikowaniu chorych do leczenia z udziałem autoHCT. Wskaźnik ten może mieć nawet większe znaczenie niż powszechnie dotychczas stosowane kryterium wieku.

## 7. WNIOSKI

Uzyskane wyniki pozwalają na wyciągnięcie następujących wniosków:

1. Leczenie wysokodawkowe z zastosowaniem schematu BEAM jest znamienne mniej toksyczne od leczenia schematem BuMeITT i może być rozważane także u chorych w starszym wieku lub obciążonych towarzyszącymi schorzeniami.
2. Ryzyko śmiertelnych powikłań po leczeniu tandemowym z udziałem chemioterapii według schematu BuMeITT, a następnie hiperfrakcjonowanym TMI jest akceptowalne, pod warunkiem nie przekroczenia dawki całkowitej 13,5 Gy w 9 frakcjach.
3. Biologiczny równoważnik dawki jest lepszym niż dawka fizyczna wskaźnikiem ryzyka powikłań popromiennych po TMI.
4. Zastosowanie hiperfrakcjonowania nie zwiększa tolerancji tkanek zdrowych (głównie płuc) na napromienianie.
5. Obecność chorób towarzyszących wyrażona wskaźnikiem HCT-CI znamienne zwiększa ryzyko zgonu u chorych po autoHCT. Wskaźnik ten powinien być zatem uwzględniany przy kwalifikacji chorych do leczenia.

## 8. STRESZCZENIE

Od niemal 30 lat w niektórych chorobach nowotworowych, takich jak chłoniaki złośliwe, szpiczak mnogi, nerwiak zarodkowy, mięsak Ewinga, czy guzy zarodkowe, podejmowane są próby leczenia z udziałem przeszczepienia autologicznych komórek hematopoetycznych. Leczenie to pozwala na podanie znacznie wyższej niż standardowa dawki leków cytotoksycznych, co w założeniu powinno zwiększyć ich skuteczność. Pierwszym etapem autoHCT jest kondycjonowanie, czyli postępowanie przygotowawcze. W tym celu stosuje się wysokodawkową chemioterapię (HDC) lub napromienianie całego ciała (TBI). Leczenie wysokodawkowe przeprowadza się raz lub wielokrotnie – najczęściej dwukrotnie, jako tak zwane leczenie tandemowe. Opublikowano wiele prac dotyczących wyników takiego leczenia, jednak niewiele jest badań, w których prospektywnie porównywano skuteczność i toksyczność różnych metod kondycjonowania. Różnorodność schematów wysokodawkowej chemioterapii, a w przypadku TBI – dawki całkowitej, frakcjonowania, mocy dawki, czy średniej dawki na płuca uniemożliwia wyciągnięcie jednoznacznych wniosków. Ponieważ autoHCT pozwala w wielu nowotworach znamienne wydłużyć czas przeżycia, towarzyszącą tej metodzie śmiertelność w granicach 5–15% uznaje się za akceptowalną. W niniejszej pracy oceniono tolerancję dwu metod kondycjonowania poprzedzającego autologiczne lub syngeniczne przeszczepienie komórek hematopoetycznych: HDC (według schematu BuMeITT lub BEAM) stosowanej jako wyłączna metoda kondycjonowania, lub – w leczeniu tandemowym (schemat BuMeITT) – w skojarzeniu z napromienianiem całego szpiku kostnego i układu kostnego (TMI). Oceniono wczesne i późne powikłania leczenia każdą z metod oraz podjęto próbę znalezienia maksymalnej fizycznej dawki tolerancji TMI i jej biologicznego równoważnika (BED).

Przedmiotem oceny było łącznie 164 chorych (83 kobiety, 81 mężczyzn) w wieku od 3 do 72 lat (mediana 52 lata) leczonych w latach 1997-2005 w FHCRC, Seattle (USA), gdzie autorka odbyła 3-letni staż naukowy. W grupie tej HDC zastosowano u 107 chorych na chłoniaki złośliwe a leczenie tandemowe z udziałem TMI – u pozostałych 57 chorych z potwierdzonymi przerzutami w kościach i/lub szpiku kostnym. U wszystkich chorych przeprowadzono szczegółowe badanie podmiotowe i przedmiotowe oraz badania obrazowe niezbędne do ustalenia stadium zaawansowania nowotworu, badania laboratoryjne, spirometrię, EKG i echokardiografię. Ze względu na niejednorodność badanej grupy, dla każdego chorego oszacowano wskaźnik obciążających chorób towarzyszących (według skali HCT-CI). Mobilizację i zbiórkę komórek hematopoetycznych oraz leczenie wspomagające prowadzono według standardów obowiązujących w FHCRC. Toksyczność leczenia oceniano stosując skalę Bearmana; odpowiedź na leczenie w guzach litych oceniano na podstawie kryteriów WHO, a w szpiczaku mnogim – według kryteriów Blade.

Spośród 107 chorych poddanych HDC 48 otrzymało schemat BEAM (BCNU, etopozyd, cytarabina, melfalan) a 59 – schemat BuMeITT (busulfan, melfalan, thiotepa). W grupie leczonej schematem BEAM znamienne wyższy był udział chorych w wieku powyżej 65 lat, w gorszym stanie ogólnym i z bardziej zaawansowaną chorobą (w stopniu III i IV  $p < 0,001$ , oraz FLIPI/IPI  $\geq 3$ ,  $p < 0,0001$ ). Leczenie schematem BuMeITT znamienne częściej było kojarzone z napromienianiem ( $p = 0,01$ ). Udział chorych, u których uzyskano przyjęcie przeszczepu był w obu grupach podobny (odpowiednio 98% i 95% w grupie BEAM i BuMeITT). Wczesne powikłania, wśród których znalazły się: zapalenie błon śluzowych jamy ustnej w 3. stopniu nasilenia, zespół zatokowej niedrożności wątroby, niewydolność oddechowa i niewydolność serca, były znamienne częstsze u chorych leczonych schematem BuMeITT. Sześciu chorych w tej grupie zmarło z powodu ostrych objawów niepożądanych. Po leczeniu schematem BEAM nie odnotowano zgonów toksycznych. Odległe powikłania były w obu grupach podobne. Jedynie *pseudoGVHD* znamienne częściej obserwowano po leczeniu BuMeITT. U chorych leczonych schematem BEAM częściej dochodziło do uszkodzenia nerek i niewydolności oddechowej. Udział całkowitych remisji u chorych leczonych schematem BEAM był niższy (31%) niż po leczeniu schematem BuMeITT (56%), a ryzyko niepowodzenia leczenia – wyższe (HR dla schematu BEAM wyniosło 1,6; 95% CI 0,96–2,6;  $p = 0,07$ ). Analiza wieloczynnikowa uwzględniająca zaawansowanie choroby nowotworowej, wiek, LDH i IPI/FLIPI nie potwierdziła jednak korzyści ze stosowania BuMeITT w odniesieniu do OS czy PFS.

Ocenę skuteczności i tolerancji napromieniania całego szpiku (TMI) przed drugim przeszczepieniem autoHCT w leczeniu tandemowym przeprowadzono w grupie 57 chorych na nowotwory złośliwe z przerzutami do szpiku i/lub kości. Pierwszą autoHCT przeprowadzano po leczeniu schematem BuMeITT, natomiast drugą – poprzedzoną hiperfrakcjonowanym TMI – po 60–120 dniach. Początkowo stosowano dawkę całkowitą napromieniania 12 Gy w 8 frakcjach w czasie 4 dni. W przypadku dobrej tolerancji leczenia dawkę całkowitą podwyższano o 1,5 Gy, początkowo do 13,5 Gy w 9 frakcjach w czasie 4,5 dni, a następnie do 15 Gy w 10 frakcjach w czasie 5 dni, co umożliwiło określenie maksymalnej dawki tolerancji. U 4 z 57 chorych leczenie było niezgodne z wymogami badania. Wyniki oceniono więc u 53 chorych, z których 25 otrzymało TMI w dawce 12 Gy, 11 w dawce 13,5 Gy i 17 w dawce 15 Gy. Przyjęcie przeszczepu po pierwszej i drugiej transplantacji przebiegało podobnie. Po pierwszej autoHCT poprzedzonej chemioterapią BuMeITT chorzy znamienne częściej wymagali przetaczania preparatów krwiopochodnych. Najczęstszym ostrym powikłaniem było zapalenie błon śluzowych jamy ustnej w 3. stopniu nasilenia i biegunka w 2. stopniu nasilenia. Nie odnotowano powikłań w 4. stopniu nasilenia. Po drugiej autoHCT najczęściej rozpoznawano zapalenie błon śluzowych jamy ustnej w 1–2. stopniu nasilenia i biegunkę w 1–2. stopniu nasilenia. Pięciu chorych zmarło z powodu ostrych powikłań

płucnych: jeden w grupie leczonej dawką 12 Gy i 4 w grupie leczonej dawką 15 Gy. W leczeniu tandemowym za najwyższą dopuszczalną uznano dawkę 13,5 Gy, dla której biologiczny równoważnik dawki dla wczesnych powikłań płucnych wyniósł 15,29 Gy. Natomiast wyliczony dla dawki fizycznej 15 Gy biologiczny równoważnik dawki dla wczesnych powikłań płucnych był wyższy od 16 Gy. Biologiczny równoważnik dawki dla późnego odczynu płucnego był wyższy od 15 Gy w całej analizowanej grupie chorych, co tłumaczy podobną częstość wystąpienia późnego zwłóknienia płuc w każdej grupie, niezależnie od dawki fizycznej. Zastosowanie drugiej autoHCT po TMI pozwoliło na zwiększenie udziału całkowitych remisji z 19% do 48%. Współczynnik 5-letnich OS i PFS po leczeniu tandemowym chorych z uogólnioną chorobą nowotworową wyniósł 36% i 24%.

Wpływ obciążających chorób współistniejących na ryzyko wystąpienia poważnych (w stopniu 3. lub 4.) powikłań po autoHCT przeanalizowano w grupie 153 spośród 164 chorych, w wieku >18 lat leczonych z udziałem autoHCT. Wykorzystano w tym celu wskaźnik obciążających chorób towarzyszących u chorych leczonych z udziałem transplantacji allogenicznych szpiku/komórek hematopoetycznych. Wykazano, że ryzyko zgonu bez progresji nowotworu było znamienne wyższe u chorych z HCT-CI  $\geq 2$  niż u chorych bez, lub z niewielkim obciążeniem chorobami towarzyszącymi (>14% w porównaniu z 3,5%). Przeprowadzona analiza wieloczynnikowa obejmująca wiek, płeć, rozpoznanie, stopień zaawansowania/wskaźnik rokowniczy, stopień złośliwości histologicznej, sposób kondycjonowania i HCT-CI, jedynie zaawansowanie choroby (stadium III i IV oraz IPI  $\geq 3$ ) i HCT-CI ( $\geq 3$ ) są istotnymi ( $p < 0,0001$ ) niezależnymi czynnikami ryzyka, dla których wskaźnik ryzyka (HR  $\pm 95\%$  CI) wyniósł odpowiednio  $4,5 \pm 0,3$  i  $5 \pm 0,4$ .

Przedstawione wyniki wskazują, że leczenie wysokodawkowe z zastosowaniem schematu BEAM jest znamienne mniej toksyczne w porównaniu z leczeniem schematem BuMelTT i może być rozważane także u chorych w starszym wieku, lub obciążonych schorzeniami internistycznymi. Ryzyko śmiertelnych powikłań po leczeniu tandemowym z udziałem chemioterapii według schematu BuMelTT a następnie hiperfrakcjonowanym TMI, jest akceptowalne pod warunkiem nie przekroczenia dawki całkowitej 13,5 Gy w 9 frakcjach. Biologiczny równoważnik dawki jest lepszym niż dawka fizyczna czynnikiem określającym ryzyko powikłań popromiennych po TMI, przy czym zastosowanie hiperfrakcjonowania nie zwiększa tolerancji tkanek zdrowych (głównie płuc) na napromienianie. Obecność chorób towarzyszących wyrażona wskaźnikiem HCT-CI znamienne zwiększa ryzyko zgonu u chorych po autoHCT.

## 9. SUMMARY

Transplantation of autologous hematopoietic cells have been attempted in several neoplastic diseases including non Hodgkin's lymphoma, multiple myeloma, neuroblastoma, Ewing's sarcoma or germ cell tumors for almost 30 years. It has been believed that this kind of approach should increase the efficacy of cytotoxic drugs, as it enables their administration in much higher doses. Conditioning (a preparative treatment) is the first phase of autoHCT. It consists of either high-dose chemotherapy (HDC) or total body irradiation (TBI). High-dose therapy could be administered once or several times – most commonly twice, as the so called tandem treatment. Despite a large body of literature data on such treatment, prospective evaluation of efficacy and toxicity accompanying different conditioning regimens has been performed rarely. Furthermore, it is impossible to draw any conclusion due to a variety of HDC regimens used, TBI total doses, dose rates, fractionation schemes and mean lung doses. AutoHCT has significantly prolonged median survival in many neoplastic diseases, therefore 5–15% treatment-related mortality is being considered acceptable. The aim of this study was to compare the tolerance of two HDC conditioning regimens (BuMelTT and BEAM) used as the sole treatment method, or BuMelTT regimen combined with total marrow irradiation (TMI) in the tandem therapy. Acute and late treatment-related toxicities, and maximal tolerated dose of TMI and its biologic equivalent dose (BED) have also been assessed.

The analysis was performed in the group of 164 patients (83 women, 81 men) aged 3 to 72 years (median 52 years) treated between 1997 and 2005 at FHCRC, Seattle, USA, where the author spent a 3-year scholarship. Of those, 107 lymphoma patients received HDC alone followed by autoHCT, and 57 patients with bone or bone-marrow metastases received tandem therapy consisting of HDC before the first, and TMI before the second autoHCT. Pretreatment evaluation included physical examination, bone marrow biopsy and aspirate, computed tomography (CT) of the chest, abdomen and pelvis, pulmonary function tests, electro- and echocardiography, cytological examination of pathological fluids, complete blood count and biochemistry. Hematopoietic cell transplantation specific comorbidity index (HCT-CI) was established for all patients to decrease the influence of other factors in this inhomogeneous population. The PBSC mobilization, collection, storage and infusion have been performed according to the FHCRC standards. Treatment-related toxicity was defined and graded using Bearman score; treatment efficacy was defined according to the WHO criteria for solid tumors, and according to Blade criteria for multiple myeloma.

Out of 107 patients treated with HDC, 48 received BEAM (BCNU, etoposide, cytarabine, melfalan) and 59 – BuMelTT regimen (busulfan, melfalan, thiotepea). On average, BEAM patients had worse characteristics at transplantation compared to the BuMelTT group. These included older age (>65 years),

worse performance status, stage (III/IV disease  $p < 0.001$ ), and high IPI/FLIPI score ( $\geq 3$ ,  $p < 0.0001$ ). Patients in the BuMelTT group were more often treated with radiotherapy ( $p = 0.01$ ). Transplant engraftment was similar in both groups (98% and 95%, respectively, in the BEAM and BuMelTT group). Early treatment-related complications including grade 3. mucositis, sinusoidal obstruction syndrome, respiratory failure, and heart failure were significantly more common in patients treated with BuMelTT regimen. Six patients treated with this regimen died of acute treatment-related complications, whereas there were no treatment-related deaths in the BEAM group. Late toxicities were similar in both groups, except for *pseudoGVHD*, which was significantly more common in the BuMelTT patients. Renal and respiratory failures were more common in patients treated with BEAM. The rate of complete remissions was lower after conditioning with BEAM compared to BuMelTT (31% vs 56%, respectively), and the risk of treatment failure higher (HR for patients treated with BEAM was 1.6; 95% CI 0.96–2.6;  $p = 0.07$ ). However after adjusting for stage of disease, age at transplantation, LDH and IPI/FLIPI, the death hazards in the BEAM and BuMelTT groups were similar.

The efficacy and tolerance of tandem therapy including HDC with BuMelTT and hyperfractionated total marrow irradiation (TMI) as a planned second conditioning regimen with autoHCT was assessed in 57 patients with bone/bone marrow involving neoplastic diseases. Both transplant procedures were separated by 60–120 days. The starting TMI dose level was 12 Gy in 8 fractions. Subsequent dose levels were increments of 1.5 Gy in increasing fractions, depending on the toxicity profile at the starting dose. Treatment results were evaluated in 53 of 57 patients, as in 4 patients protocol violations were found. Transplant engraftments following both autoHCT were similar, although patients treated with BuMelTT significantly more often required red blood cells or platelets transfusions. The most common acute treatment-related toxicity was grade 3. mucositis and grade 2. diarrhea. There was no grade 4. complications. The second autoHCT was most commonly complicated by mild (grade 1–2.) mucositis and diarrhea. There were 5 treatment-related deaths: one at 12 Gy TMI dose level, and 4 at 15 Gy. A dose of 13.5 Gy was considered maximum tolerated dose. Biologic equivalent dose for acute pulmonary complications was higher than 16 Gy for the physical dose higher than 13.5 Gy chosen as the MTD. Biologic equivalent dose for the late pulmonary injury was higher than 15 Gy at all dose levels, what explains similar risk of late lung fibrosis at three physical dose levels. The second high dose treatment with autoHCT increased the rate of complete remissions from 19% to 48%. Five year OS and PFS after tandem treatment were 36% and 24%, respectively.

The influence of comorbidities on the risk of severe (grade 3–4.) transplant-related complications was analyzed in the group of 153 of 164 patients at the age  $> 18$  years, treated with the use of autoHCT-supported high-dose therapy. The risk of death without relapse or progression was significantly higher in patients

with HCT-CI  $\geq 2$  than in patients without important comorbidities (>14% vs 3.5%). After adjusting for age, gender, diagnosis, stage of disease/prognostic index, histological grade, preparatory regimen and HCT-CI, only the stage (III and IV, and IPI  $\geq 3$ ) and HCT-CI ( $\geq 3$ ) were significantly ( $p < 0.0001$ ) independent risk factors (HR  $\pm 95\%$  CI of  $4.5 \pm 0.3$  and  $5 \pm 0.4$ , respectively).

The results of this study allow drawing the following conclusions: autoHCT following high-dose regimen BEAM is less toxic compared to autoHCT following BuMeITT and can be considered as a treatment option in older patients with significant comorbidities. The risk of fatal complications following tandem high-dose treatment with autoHCT following BuMeITT and hyperfractionated TMI is acceptable up to the total dose of TMI 13.5 Gy in 9 fractions. Biologic equivalent dose correlates better than physical dose with the risk of post TMI-related complications. Hyperfractionation does not increase the tolerance of critical organs (lung) to irradiation. The presence of comorbid diseases measured with HCT CI significantly increases the risk of death in patients treated with autoHCT.



---

## 10. PIŚMIENICTWO

1. Dean M, Fojo T, Bates S. Tumour stem cells and drug resistance. *Nat Rev Cancer*. 2005;5:275-284.
2. Hirschmann-Jax C, Foster AE, Wulf GG, Goodell MA, Brenner MK. A distinct "side population" of cells in human tumor cells: implications for tumor biology and therapy. *Cell Cycle*. 2005;4:203-205.
3. Szotek PP, Pieretti-Vanmarcke R, Masiakos PT, et al. Ovarian cancer side population defines cells with stem cell-like characteristics and Mullerian Inhibiting Substance responsiveness. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103:11154-11159.
4. Casares N, Pequignot MO, Tesniere A, et al. Caspase-dependent immunogenicity of doxorubicin-induced tumor cell death. *J Exp Med*. 2005;202:1691-1701.
5. Copelan EA. Hematopoietic stem-cell transplantation. *N Engl J Med*. 2006;354:1813-1826.
6. Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med*. 1989;321:1174-1178.
7. Chao NJ, Emerson SG, Weinberg KI. Stem cell transplantation (cord blood transplants). *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2004:354-371.
8. Medinger F.G. CLF. Total Body Irradiation with review of cases. *American Journal of Roentgenology*. 1942;48:651-668.
9. Thomas ED, Storb R, Fefer A, et al. Aplastic anaemia treated by marrow transplantation. *Lancet*. 1972;1:284-289.
10. Thomas E, Storb R, Clift RA, et al. Bone-marrow transplantation (first of two parts). *N Engl J Med*. 1975;292:832-843.
11. Blume KG, Thomas ED. A review of autologous hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2000;6:1-12.
12. McSweeney PA, Niederwieser D, Shizuru JA, et al. Hematopoietic cell transplantation in older patients with hematologic malignancies: replacing high-dose cytotoxic therapy with graft-versus-tumor effects. *Blood*. 2001;97:3390-3400.
13. Baron F, Baker JE, Storb R, et al. Kinetics of engraftment in patients with hematologic malignancies given allogeneic hematopoietic cell transplantation after nonmyeloablative conditioning. *Blood*. 2004;104:2254-2262.
14. Clift RA, Buckner CD, Appelbaum FR, et al. Allogeneic marrow transplantation in patients with chronic myeloid leukemia in the chronic phase: a randomized trial of two irradiation regimens. *Blood*. 1991;77:1660-1665.

15. Clift RA, Buckner CD, Appelbaum FR, et al. Allogeneic marrow transplantation in patients with acute myeloid leukemia in first remission: a randomized trial of two irradiation regimens. *Blood*. 1990;76:1867-1871.
16. Cosset JM, Socie G, Dubray B, Girinsky T, Fourquet A, Gluckman E. Single dose versus fractionated total body irradiation before bone marrow transplantation: radiobiological and clinical considerations. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1994;30:477-492.
17. Bieri S, Helg C, Chapuis B, Miralbell R. Total body irradiation before allogeneic bone marrow transplantation: is more dose better? *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2001;49:1071-1077.
18. Carruthers SA, Wallington MM. Total body irradiation and pneumonitis risk: a review of outcomes. *Br J Cancer*. 2004;90:2080-2084.
19. Corvo R, Paoli G, Barra S, et al. Total body irradiation correlates with chronic graft versus host disease and affects prognosis of patients with acute lymphoblastic leukemia receiving an HLA identical allogeneic bone marrow transplant. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1999;43:497-503.
20. Deeg HJ, Sullivan KM, Buckner CD, et al. Marrow transplantation for acute nonlymphoblastic leukemia in first remission: toxicity and long-term follow-up of patients conditioned with single dose or fractionated total body irradiation. *Bone Marrow Transplant*. 1986;1:151-157.
21. Girinsky T, Benhamou E, Bourhis JH, et al. Prospective randomized comparison of single-dose versus hyperfractionated total-body irradiation in patients with hematologic malignancies. *J Clin Oncol*. 2000;18:981-986.
22. Gopal R, Ha CS, Tucker SL, et al. Comparison of two total body irradiation fractionation regimens with respect to acute and late pulmonary toxicity. *Cancer*. 2001;92:1949-1958.
23. Oya N, Sasai K, Tachiiri S, et al. Influence of radiation dose rate and lung dose on interstitial pneumonitis after fractionated total body irradiation: acute parotitis may predict interstitial pneumonitis. *Int J Hematol*. 2006;83:86-91.
24. Ozsahin M, Pene F, Touboul E, et al. Total-body irradiation before bone marrow transplantation. Results of two randomized instantaneous dose rates in 157 patients. *Cancer*. 1992;69:2853-2865.
25. Ozsahin M, Belkacemi Y, Pene F, et al. Interstitial pneumonitis following autologous bone-marrow transplantation conditioned with cyclophosphamide and total-body irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1996;34:71-77.
26. Della Volpe A, Ferreri AJ, Annaloro C, et al. Lethal pulmonary complications significantly correlate with individually assessed mean lung dose in patients with hematologic malignancies treated with total body irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2002;52:483-488.
27. Thomas O, Mahe M, Campion L, et al. Long-term complications of total body irradiation in adults. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2001;49:125-131.

28. Zierhut D, Lohr F, Schraube P, et al. Cataract incidence after total-body irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2000;46:131-135.
29. Barrett A, Nicholls J, Gibson B. Late effects of total body irradiation. *Radiother Oncol.* 1987;9:131-135.
30. Bergstein J, Andreoli SP, Provisor AJ, Yum M. Radiation nephritis following total-body irradiation and cyclophosphamide in preparation for bone marrow transplantation. *Transplantation.* 1986;41:63-66.
31. Shank B. Techniques of magna-field irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1983;9:1925-1931.
32. Labar B, Bogdanic V, Nemet D, et al. Total body irradiation with or without lung shielding for allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1992;9:343-347.
33. Socie G, Devergie A, Girinsky T, et al. Influence of the fractionation of total body irradiation on complications and relapse rate for chronic myelogenous leukemia. The Groupe d'Etude des greffes de moelle osseuse (GEGMO). *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1991;20:397-404.
34. Sahler OD. Development of a room specifically designed for total-body irradiation. *Radiology.* 1959;72:266-267.
35. Cunningham JR, Wright DJ. A simple facility for wholebody irradiation. *Radiology.* 1962;78:941-949.
36. Quast U. Total body irradiation--review of treatment techniques in Europe. *Radiother Oncol.* 1987;9:91-106.
37. Engler MJ, Feldman MI, Spira J. Arc technique for total-body irradiation by a 42-MV betatron. *Med Phys.* 1977;4:524-525.
38. Peters VG, Herer AS. Modification of a standard cobalt-60 unit for total body irradiation at 150 cm SSD. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1984;10:927-932.
39. Hussein S, el-Khatib E. Total body irradiation with a sweeping 60Cobalt beam. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1995;33:493-497.
40. Schultheiss T. LA, Wong J., Olivera G., Kapatoes J. Total marrow and total lymphatic irradiation with helical tomotherapy. *Medical Physics.* 2004;31:1845.
41. Schultheiss TE. LA, Wong J., Olivera G., Kapatoes J. Normal tissue sparing in total marrow and total lymphatic irradiation with helical tomotherapy. *International journal of Radiation Oncology Biology and Physics.* 2004;60:S544.
42. Wong JY, Liu A, Schultheiss T, et al. Targeted total marrow irradiation using three-dimensional image-guided tomographic intensity-modulated radiation therapy: an alternative to standard total body irradiation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2006;12:306-315.
43. Aydogan B, Mundt AJ, Roeske JC. Linac-based intensity modulated total marrow irradiation (IM-TMI). *Technol Cancer Res Treat.* 2006;5:513-519.

44. Antman KH, Rowlings PA, Vaughan WP, et al. High-dose chemotherapy with autologous hematopoietic stem-cell support for breast cancer in North America. *J Clin Oncol.* 1997;15:1870-1879.
45. Peters WP, Ross M, Vredenburgh JJ, et al. High-dose chemotherapy and autologous bone marrow support as consolidation after standard-dose adjuvant therapy for high-risk primary breast cancer. *J Clin Oncol.* 1993;11:1132-1143.
46. Bensinger WI, Rowley SD, Demirer T, et al. High-dose therapy followed by autologous hematopoietic stem-cell infusion for patients with multiple myeloma. *J Clin Oncol.* 1996;14:1447-1456.
47. Frohlich B, Ahrens S, Burdach S, et al [High-dosage chemotherapy in primary metastasized and relapsed Ewing's sarcoma. (EI)CESS]. *Klin Padiatr.* 1999;211:284-290.
48. Burdach S, Meyer-Bahlburg A, Laws HJ, et al. High-dose therapy for patients with primary multifocal and early relapsed Ewing's tumors: results of two consecutive regimens assessing the role of total-body irradiation. *J Clin Oncol.* 2003;21:3072-3078.
49. Cotterill SJ, Ahrens S, Paulussen M, et al. Prognostic factors in Ewing's tumor of bone: analysis of 975 patients from the European Intergroup Cooperative Ewing's Sarcoma Study Group. *J Clin Oncol.* 2000;18:3108-3114.
50. Berry DA, Broadwater G, Klein JP, et al. High-dose versus standard chemotherapy in metastatic breast cancer: comparison of Cancer and Leukemia Group B trials with data from the Autologous Blood and Marrow Transplant Registry. *J Clin Oncol.* 2002;20:743-750.
51. Barlogie B, Shaughnessy J, Tricot G, et al. Treatment of multiple myeloma. *Blood.* 2004;103:20-32.
52. Vesole DH, Crowley JJ, Catchatourian R, et al. High-dose melphalan with autotransplantation for refractory multiple myeloma: results of a Southwest Oncology Group phase II trial. *J Clin Oncol.* 1999;17:2173-2179.
53. Attal M, Harousseau JL, Stoppa AM, et al. A prospective, randomized trial of autologous bone marrow transplantation and chemotherapy in multiple myeloma. *Intergroupe Francais du Myelome. N Engl J Med.* 1996;335:91-97.
54. Nieto Y, Nawaz S, Jones RB, et al. Prognostic model for relapse after high-dose chemotherapy with autologous stem-cell transplantation for stage IV oligometastatic breast cancer. *J Clin Oncol.* 2002;20:707-718.
55. Rodenhuis S, Richel DJ, van der Wall E, et al. Randomised trial of high-dose chemotherapy and haemopoietic progenitor-cell support in operable breast cancer with extensive axillary lymph-node involvement. *Lancet.* 1998;352:515-521.

56. Rodenhuis S, Bontenbal M, Beex LV, et al. High-dose chemotherapy with hematopoietic stem-cell rescue for high-risk breast cancer. *N Engl J Med.* 2003;349:7-16.
57. Turner N, Tutt A, Ashworth A. Hallmarks of 'BRCAness' in sporadic cancers. *Nat Rev Cancer.* 2004;4:814-819.
58. Farmer H, McCabe N, Lord CJ, et al. Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy. *Nature.* 2005;434:917-921.
59. Bergh J, Wiklund T, Erikstein B, et al. Tailored fluorouracil, epirubicin, and cyclophosphamide compared with marrow-supported high-dose chemotherapy as adjuvant treatment for high-risk breast cancer: a randomised trial. *Scandinavian Breast Group 9401 study. Lancet.* 2000;356:1384-1391.
60. Madan B, Broadwater G, Rubin P. Improved survival with consolidation high-dose cyclophosphamide, cisplatin and carmustin (Hd-Cbp) compared with observation in women with metastatic breast cancer (Mbc) and only bone metastases treated with induction adriamycin, 5-Fluorouracil and methotrexate. In: *Oncol PASC ed; 2000.*
61. Rzepecki P ST, Deptała A, Szczylik C. Przeszczepianie autologicznych krwiotwórczych komórek macierzystych w leczeniu wybranych guzów litych u dorosłych. *Acta Haematologica Polonica.* 2006;37:159-166.
62. Rzepecki P ST, Szczylik C. Rola przeszczepienia autologicznych krwiotwórczych komórek macierzystych w leczeniu guzów zarodkowych oraz miesaków tkanek miękkich. *Współczesna onkologia.* 2006;10:7-12.
63. Motzer RJ, Nichols CJ, Margolin KA, et al. Phase III randomized trial of conventional-dose chemotherapy with or without high-dose chemotherapy and autologous hematopoietic stem-cell rescue as first-line treatment for patients with poor-prognosis metastatic germ cell tumors. *J Clin Oncol.* 2007;25:247-256.
64. Gratwohl A, Baldomero H, Frauendorfer K, Urbano-Ispizua A, Niederwieser D. Results of the EBMT activity survey 2005 on haematopoietic stem cell transplantation: focus on increasing use of unrelated donors. *Bone Marrow Transplant.* 2007;39:71-87.
65. Ljungman P, Urbano-Ispizua A, Cavazzana-Calvo M, et al. Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: definitions and current practice in Europe. *Bone Marrow Transplant.* 2006;37:439-449.
66. Rajkumar SV, Blood E, Vesole D, Fonseca R, Greipp PR. Phase III clinical trial of thalidomide plus dexamethasone compared with dexamethasone alone in newly diagnosed multiple myeloma: a clinical trial coordinated by the Eastern Cooperative Oncology Group. *J Clin Oncol.* 2006;24:431-436.
67. Rifkin RM, Gregory SA, Mohrbacher A, Hussein MA. Pegylated liposomal doxorubicin, vincristine, and dexamethasone provide significant re-

- duction in toxicity compared with doxorubicin, vincristine, and dexamethasone in patients with newly diagnosed multiple myeloma: a Phase III multicenter randomized trial. *Cancer*. 2006;106:848-858.
68. McElwain TJ, Powles RL. High-dose intravenous melphalan for plasma-cell leukaemia and myeloma. *Lancet*. 1983;2:822-824.
  69. Selby PJ, McElwain TJ, Nandi AC, et al. Multiple myeloma treated with high dose intravenous melphalan. *Br J Haematol*. 1987;66:55-62.
  70. Barlogie B, Hall R, Zander A, Dicke K, Alexanian R. High-dose melphalan with autologous bone marrow transplantation for multiple myeloma. *Blood*. 1986;67:1298-1301.
  71. Barlogie B, Alexanian R, Dicke KA, et al. High-dose chemoradiotherapy and autologous bone marrow transplantation for resistant multiple myeloma. *Blood*. 1987;70:869-872.
  72. Kyle RA, Rajkumar SV. Multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2004;351:1860-1873.
  73. Vesole DH, Barlogie B, Jagannath S, et al. High-dose therapy for refractory multiple myeloma: improved prognosis with better supportive care and double transplants. *Blood*. 1994;84:950-956.
  74. Child JA, Morgan GJ, Davies FE, et al. High-dose chemotherapy with hematopoietic stem-cell rescue for multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2003;348:1875-1883.
  75. Attal M, Harousseau JL. Randomized trial experience of the Intergroupe Francophone du Myelome. *Semin Hematol*. 2001;38:226-230.
  76. Segeren CM, Sonneveld P, van der Holt B, et al. Overall and event-free survival are not improved by the use of myeloablative therapy following intensified chemotherapy in previously untreated patients with multiple myeloma: a prospective randomized phase 3 study. *Blood*. 2003;101:2144-2151.
  77. Coiffier B. State-of-the-art therapeutics: diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2005;23:6387-6393.
  78. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. *N Engl J Med*. 1993;329:987-994.
  79. Fisher SG, Fisher RI. The epidemiology of non-Hodgkin's lymphoma. *Oncogene*. 2004;23:6524-6534.
  80. Coiffier B. Increasing chemotherapy intensity in aggressive lymphomas: a renewal? *J Clin Oncol*. 2003;21:2457-2459.
  81. Coiffier B, Lepage E, Briere J, et al. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med*. 2002;346:235-242.
  82. Kaiser U, Uebelacker I, Abel U, et al. Randomized study to evaluate the use of high-dose therapy as part of primary treatment for "aggressive" lymphoma. *J Clin Oncol*. 2002;20:4413-4419.

83. Milpied N, Deconinck E, Gaillard F, et al. Initial treatment of aggressive lymphoma with high-dose chemotherapy and autologous stem-cell support. *N Engl J Med.* 2004;350:1287-1295.
84. Nademanee A, Molina A, Dagens A, et al. Autologous stem-cell transplantation for poor-risk and relapsed intermediate- and high-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Clin Lymphoma.* 2000;1:46-54.
85. Mounier N, Gisselbrecht C, Briere J, et al. Prognostic factors in patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma treated by front-line autotransplantation after complete remission: a cohort study by the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. *J Clin Oncol.* 2004;22:2826-2834.
86. Haioun C, Lepage E, Gisselbrecht C, et al. Survival benefit of high-dose therapy in poor-risk aggressive non-Hodgkin's lymphoma: final analysis of the prospective LNH87-2 protocol--a groupe d'Etude des lymphomes de l'Adulte study. *J Clin Oncol.* 2000;18:3025-3030.
87. Gianni AM, Bregni M, Siena S, et al. High-dose chemotherapy and autologous bone marrow transplantation compared with MACOP-B in aggressive B-cell lymphoma. *N Engl J Med.* 1997;336:1290-1297.
88. Bertz H, Zeiser R, Lange W, Fetscher S, Waller CF, Finke J. Long-term follow-up after high-dose chemotherapy and autologous stem-cell transplantation for high-grade B-cell lymphoma suggests an improved outcome for high-risk patients with respect to the age-adjusted International Prognostic Index. *Ann Oncol.* 2004;15:1419-1424.
89. Schmitz N, Pfistner B, Sextro M, et al. Aggressive conventional chemotherapy compared with high-dose chemotherapy with autologous haemopoietic stem-cell transplantation for relapsed chemosensitive Hodgkin's disease: a randomised trial. *Lancet.* 2002;359:2065-2071.
90. Intragumtornchai T, Prayoonwiwat W, Numbenjapon T, Assawametha N, O'Charoen R, Swasdikul D. CHOP versus CHOP plus ESHAP and high-dose therapy with autologous peripheral blood progenitor cell transplantation for high-intermediate-risk and high-risk aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Clin Lymphoma.* 2000;1:219-225.
91. Freedman AS, Neuberg D, Mauch P, et al. Long-term follow-up of autologous bone marrow transplantation in patients with relapsed follicular lymphoma. *Blood.* 1999;94:3325-3333.
92. Philip T, Guglielmi C, Hagenbeek A, et al. Autologous bone marrow transplantation as compared with salvage chemotherapy in relapses of chemotherapy-sensitive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med.* 1995;333:1540-1545.
93. Weaver CH, Schwartzberg L, Zhen B, et al. High-dose chemotherapy and peripheral blood stem cell infusion in patients with non-Hodgkin's lymphoma: results of outpatient treatment in community cancer centers. *Bone Marrow Transplant.* 1997;20:753-760.

94. Tilly H, Lepage E, Coiffier B, et al. Intensive conventional chemotherapy (ACVBP regimen) compared with standard CHOP for poor-prognosis aggressive non-Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2003;102:4284-4289.
95. Schouten HC, Qian W, Kvaloy S, et al. High-dose therapy improves progression-free survival and survival in relapsed follicular non-Hodgkin's lymphoma: results from the randomized European CUP trial. *J Clin Oncol*. 2003;21:3918-3927.
96. Deconinck E, Foussard C, Milpied N, et al. High-dose therapy followed by autologous purged stem-cell transplantation and doxorubicin-based chemotherapy in patients with advanced follicular lymphoma: a randomized multicenter study by GOELAMS. *Blood*. 2005;105:3817-3823.
97. Lenz G, Dreyling M, Schiegnitz E, et al. Moderate increase of secondary hematologic malignancies after myeloablative radiochemotherapy and autologous stem-cell transplantation in patients with indolent lymphoma: results of a prospective randomized trial of the German Low Grade Lymphoma Study Group. *J Clin Oncol*. 2004;22:4926-4933.
98. Sebban C, Mounier N, Brousse N, et al. Standard chemotherapy with interferon compared with CHOP followed by high-dose therapy with autologous stem cell transplantation in untreated patients with advanced follicular lymphoma: the GELF-94 randomized study from the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte (GELA). *Blood*. 2006;108:2540-2544.
99. Densmore JJ, Williams ME. Mantle cell lymphoma. *Curr Treat Options Oncol*. 2003;4:281-287.
100. Witzig TE. Current treatment approaches for mantle-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2005;23:6409-6414.
101. Lenz G, Dreyling M. Does the combination of rituximab and thalidomide influence the long-term perspectives of advanced-stage MCL? *Nat Clin Pract Oncol*. 2005;2:72-73.
102. Dreyling M, Lenz G, Hoster E, et al. Early consolidation by myeloablative radiochemotherapy followed by autologous stem cell transplantation in first remission significantly prolongs progression-free survival in mantle-cell lymphoma: results of a prospective randomized trial of the European MCL Network. *Blood*. 2005;105:2677-2684.
103. Lefrere F, Delmer A, Levy V, Delarue R, Varet B, Hermine O. Sequential chemotherapy regimens followed by high-dose therapy with stem cell transplantation in mantle cell lymphoma: an update of a prospective study. *Haematologica*. 2004;89:1275-1276.
104. Romaguera JE, Fayad L, Rodriguez MA, et al. High rate of durable remissions after treatment of newly diagnosed aggressive mantle-cell lymphoma with rituximab plus hyper-CVAD alternating with rituximab plus high-dose methotrexate and cytarabine. *J Clin Oncol*. 2005;23:7013-7023.



105. Gopal AK, Rajendran JG, Petersdorf SH, et al. High-dose chemo-radioimmunotherapy with autologous stem cell support for relapsed mantle cell lymphoma. *Blood*. 2002;99:3158-3162.
106. Czuczman MS, Thall A, Witzig TE, et al. Phase I/II study of galiximab, an anti-CD80 antibody, for relapsed or refractory follicular lymphoma. *J Clin Oncol*. 2005;23:4390-4398.
107. Goy A, Younes A, McLaughlin P, et al. Phase II study of proteasome inhibitor bortezomib in relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol*. 2005;23:667-675.
108. Witzig TE, Geyer SM, Ghobrial I, et al. Phase II Trial of Single-Agent Temsirolimus (CCI-779) for Relapsed Mantle Cell Lymphoma. *J Clin Oncol*. 2005.
109. Barlogie B, Jagannath S, Desikan KR, et al. Total therapy with tandem transplants for newly diagnosed multiple myeloma. *Blood*. 1999;93:55-65.
110. Barlogie B, Tricot GJ, van Rhee F, et al. Long-term outcome results of the first tandem autotransplant trial for multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2006;135:158-164.
111. Barlogie B, Zangari M, Bolejack V, et al. Superior 12-year survival after at least 4-year continuous remission with tandem transplantations for multiple myeloma. *Clin Lymphoma Myeloma*. 2006;6:469-474.
112. Attal M, Harousseau JL, Facon T, et al. Single versus double autologous stem-cell transplantation for multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2003;349:2495-2502.
113. Moreau P, Facon T, Attal M, et al. Comparison of 200 mg/m<sup>2</sup> melphalan and 8 Gy total body irradiation plus 140 mg/m<sup>2</sup> melphalan as conditioning regimens for peripheral blood stem cell transplantation in patients with newly diagnosed multiple myeloma: final analysis of the Intergroupe Francophone du Myelome 9502 randomized trial. *Blood*. 2002;99:731-735.
114. Jackson G, Einsele H, Moreau P, Miguel JS. Bortezomib, a novel proteasome inhibitor, in the treatment of hematologic malignancies. *Cancer Treat Rev*. 2005;31:591-602.
115. Berenson JR, Yang HH, Sadler K, et al. Phase I/II trial assessing bortezomib and melphalan combination therapy for the treatment of patients with relapsed or refractory multiple myeloma. *J Clin Oncol*. 2006;24:937-944.
116. Roodman GD. Mechanisms of bone metastasis. *N Engl J Med*. 2004;350:1655-1664.
117. Coleman RE. Skeletal complications of malignancy. *Cancer*. 1997;80:1588-1594.
118. Coleman R. Management of bone metastases. *Cancer Treat Rev*. 1997;23:S69-75.

119. Coleman RE, Rubens RD. The clinical course of bone metastases from breast cancer. *Br J Cancer*. 1987;55:61-66.
120. Schirrmeister H, Guhlmann A, Elsner K, et al. Sensitivity in detecting osseous lesions depends on anatomic localization: planar bone scintigraphy versus 18F PET. *J Nucl Med*. 1999;40:1623-1629.
121. Hamaoka T, Madewell JE, Podoloff DA, Hortobagyi GN, Ueno NT. Bone imaging in metastatic breast cancer. *J Clin Oncol*. 2004;22:2942-2953.
122. Cheran SK, Herndon JE, 2nd, Patz EF, Jr. Comparison of whole-body FDG-PET to bone scan for detection of bone metastases in patients with a new diagnosis of lung cancer. *Lung Cancer*. 2004;44:317-325.
123. Kontny U. Regulation of apoptosis and proliferation in Ewing's sarcoma-opportunities for targeted therapy. *Hematol Oncol*. 2006;24:14-21.
124. Mundy GR. Metastasis to bone: causes, consequences and therapeutic opportunities. *Nat Rev Cancer*. 2002;2:584-593.
125. Paget. The distribution of secondary growth in cancer of the breast. *Lancet*. 1889;1:571-583.
126. Kahn D, Weiner GJ, Ben-Haim S, et al. Positron emission tomographic measurement of bone marrow blood flow to the pelvis and lumbar vertebrae in young normal adults. *Blood*. 1994;83:958-963.
127. Valta MP, Hentunen T, Qu Q, et al. Regulation of Osteoblast Differentiation - A Novel Function for FGF-8. *Endocrinology*. 2006;26:26.
128. Wada T, Nakashima T, Hiroshi N, Penninger JM. RANKL-RANK signaling in osteoclastogenesis and bone disease. *Trends Mol Med*. 2006;12:17-25.
129. Kakonen SM, Mundy GR. Mechanisms of osteolytic bone metastases in breast carcinoma. *Cancer*. 2003;97:834-839.
130. Coleman RE. Monitoring of bone metastases. *Eur J Cancer*. 1998;34:252-259.
131. Schindlbeck C, Kampik T, Janni W, et al. Prognostic relevance of disseminated tumor cells in the bone marrow and biological factors of 265 primary breast carcinomas. *Breast Cancer Res*. 2005;7:R1174-1185.
132. Pierga JY, Robain M, Jouve M, et al. Response to chemotherapy is a major parameter-influencing long-term survival of metastatic breast cancer patients. *Ann Oncol*. 2001;12:231-237.
133. Oken MM, Creech RH, Tormey DC, et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol*. 1982;5:649-655.
134. McQuay HJ, Collins SL, Carroll D, Moore RA. Radiotherapy for the palliation of painful bone metastases. *Cochrane Database Syst Rev*. 2000:CD001793.
135. Salazar OM, Scarantino CW. Theoretical and practical uses of elective systemic (half-body) irradiation after 20 years of experimental designs. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1997;39:907-913.

136. Scarantino CW, Caplan R, Rotman M, Coughlin C, Demas W, Delrowe J. A phase I/II study to evaluate the effect of fractionated hemibody irradiation in the treatment of osseous metastases--RTOG 88-22. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1996;36:37-48.
137. Hu K, Yahalom J. Radiotherapy in the management of plasma cell tumors. *Oncology (Williston Park).* 2000;14:101-108, 111; discussion 111-102, 115.
138. Kaplan MH, Feinstein AR. The importance of classifying initial comorbidity in evaluating the outcome of diabetes mellitus. *J Chronic Dis.* 1974;27:387-404.
139. Extermann M. Measurement and impact of comorbidity in older cancer patients. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2000;35:181-200.
140. Extermann M. Measuring comorbidity in older cancer patients. *Eur J Cancer.* 2000;36:453-471.
141. Yancik R, Wesley MN, Ries LA, et al. Comorbidity and age as predictors of risk for early mortality of male and female colon carcinoma patients: a population-based study. *Cancer.* 1998;82:2123-2134.
142. Yancik R, Wesley MN, Ries LA, Havlik RJ, Edwards BK, Yates JW. Effect of age and comorbidity in postmenopausal breast cancer patients aged 55 years and older. *Jama.* 2001;285:885-892.
143. Iegelman-Danieli N, Khandelwal V, Wood GC, et al. Breast cancer in elderly women: outcome as affected by age, tumor features, comorbidities, and treatment approach. *Clin Breast Cancer.* 2006;7:59-66.
144. Firat S, Bousamra M, Gore E, Byhardt RW. Comorbidity and KPS are independent prognostic factors in stage I non-small-cell lung cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2002;52:1047-1057.
145. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis.* 1987;40:373-383.
146. Charlson M, Szatrowski TP, Peterson J, Gold J. Validation of a combined comorbidity index. *J Clin Epidemiol.* 1994;47:1245-1251.
147. Hawkins D, Barnett T, Bensinger W, Gooley T, Sanders J. Busulfan, melphalan, and thiotepa with or without total marrow irradiation with hematopoietic stem cell rescue for poor-risk Ewing-Sarcoma-Family tumors. *Med Pediatr Oncol.* 2000;34:328-337.
148. George RE, Li S, Medeiros-Nancarrow C, et al. High-risk neuroblastoma treated with tandem autologous peripheral-blood stem cell-supported transplantation: long-term survival update. *J Clin Oncol.* 2006;24:2891-2896.
149. Kletzel M, Katzenstein HM, Haut PR, et al. Treatment of high-risk neuroblastoma with triple-tandem high-dose therapy and stem-cell rescue: results of the Chicago Pilot II Study. *J Clin Oncol.* 2002;20:2284-2292.

150. Yamada K, Takahashi M, Ogura M, et al. High-dose chemotherapy and autologous peripheral blood stem cell transfusion for adult and adolescent patients with small round cell sarcomas. *Bone Marrow Transplant.* 2007;39:471-476.
151. Sorror ML, Maris MB, Storb R, et al. Hematopoietic cell transplantation (HCT)-specific comorbidity index: a new tool for risk assessment before allogeneic HCT. *Blood.* 2005;106:2912-2919.
152. Bensinger W, Appelbaum F, Rowley S, et al. Factors that influence collection and engraftment of autologous peripheral-blood stem cells. *J Clin Oncol.* 1995;13:2547-2555.
153. Demirer T, Buckner CD, Bensinger WI. Optimization of peripheral blood stem cell mobilization. *Stem Cells.* 1996;14:106-116.
154. Kanda Y, Mineishi S, Saito T, et al. Long-term low-dose acyclovir against varicella-zoster virus reactivation after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2001;28:689-692.
155. Schulenburg A, Watkins-Riedel T, Greinix HT, et al. CMV monitoring after peripheral blood stem cell and bone marrow transplantation by pp65 antigen and quantitative PCR. *Bone Marrow Transplant.* 2001;28:765-768.
156. Kanda Y, Mineishi S, Saito T, et al. Response-oriented preemptive therapy against cytomegalovirus disease with low-dose ganciclovir: a prospective evaluation. *Transplantation.* 2002;73:568-572.
157. Bearman SI, Appelbaum FR, Buckner CD, et al. Regimen-related toxicity in patients undergoing bone marrow transplantation. *J Clin Oncol.* 1988;6:1562-1568.
158. Chien JW, Madtes DK, Clark JG. Pulmonary function testing prior to hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2005;35:429-435.
159. Miller AB, Hoogstraten B, Staquet M, Winkler A. Reporting results of cancer treatment. *Cancer.* 1981;47:207-214.
160. Blade J, Samson D, Reece D, et al. Criteria for evaluating disease response and progression in patients with multiple myeloma treated by high-dose therapy and haemopoietic stem cell transplantation. Myeloma Subcommittee of the EBMT. European Group for Blood and Marrow Transplant. *Br J Haematol.* 1998;102:1115-1123.
161. Dimopoulos MA, Mouloupoulos LA, Datsaris I, et al. Imaging of myeloma bone disease--implications for staging, prognosis and follow-up. *Acta Oncol.* 2000;39:823-827.
162. Mouloupoulos LA, Gika D, Anagnostopoulos A, et al. Prognostic significance of magnetic resonance imaging of bone marrow in previously untreated patients with multiple myeloma. *Ann Oncol.* 2005;16:1824-1828.

163. Kal HB, Loes van Kempen-Harteveld M, Heijenbrok-Kal MH, Struikmans H. Biologically effective dose in total-body irradiation and hematopoietic stem cell transplantation. *Strahlenther Onkol.* 2006;182:672-679.
164. Kaplan EL MP. Nonparametric estimation from incomplete observations. *Journal Am Stat Assoc.* 1958;53:457-481.
165. Gooley TA, Leisenring W, Crowley J, Storer BE. Estimation of failure probabilities in the presence of competing risks: new representations of old estimators. *Stat Med.* 1999;18:695-706.
166. Hsi BP. The multiple sample up-and-sown method in bioassay. *J Am Stat Assoc.* 1969;64:147-162.
167. Steel G. *Basic clinical radiobiology.* London: Arnold. 2002;3rd edn.
168. Thames JHaE. *Fractionation in radiotherapy.* London-Philadelphia: Taylor & Francis. 1987.
169. van Kempen-Harteveld ML, Belkacemi Y, Kal HB, Labopin M, Frassoni F. Dose-effect relationship for cataract induction after single-dose total body irradiation and bone marrow transplantation for acute leukemia. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2002;52:1367-1374.
170. Salar A, Sierra J, Gandarillas M, et al. Autologous stem cell transplantation for clinically aggressive non-Hodgkin's lymphoma: the role of preparative regimens. *Bone Marrow Transplant.* 2001;27:405-412.
171. Martin A, Caballero MD, Perez-Simon JA, et al. Results of autologous transplantation in lymphoma are not improved by increasing the dose of etoposide in the BEAM regimen: a single-centre sequential-cohort study. *Bone Marrow Transplant.* 2004;34:675-682.
172. Caballero MD, Perez-Simon JA, Iriondo A, et al. High-dose therapy in diffuse large cell lymphoma: results and prognostic factors in 452 patients from the GEL-TAMO Spanish Cooperative Group. *Ann Oncol.* 2003;14:140-151.
173. Josting A, Sieniawski M, Glossmann JP, et al. High-dose sequential chemotherapy followed by autologous stem cell transplantation in relapsed and refractory aggressive non-Hodgkin's lymphoma: results of a multicenter phase II study. *Ann Oncol.* 2005.
174. Usui N, Yano S, Asai O, et al. Long-Term Follow-up High-Dose Chemotherapy (Drug-Only Program) Followed by Autologous Stem Cell Transplantation for Aggressive Non-Hodgkin's Lymphomas. *Clin Lymphoma.* 2005;6:31-36.
175. Stockerl-Goldstein KE, Horning SJ, Negrin RS, et al. Influence of preparatory regimen and source of hematopoietic cells on outcome of auto-transplantation for non-Hodgkin's lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant.* 1996;2:76-85.
176. Mills W, Chopra R, McMillan A, Pearce R, Linch DC, Goldstone AH. BEAM chemotherapy and autologous bone marrow transplantation for

- patients with relapsed or refractory non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol.* 1995;13:588-595.
177. Horning SJ, Negrin RS, Chao JC, Long GD, Hoppe RT, Blume KG. Fractionated total-body irradiation, etoposide, and cyclophosphamide plus autografting in Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol.* 1994;12:2552-2558.
178. Gulati S, Yahalom J, Acaba L, et al. Treatment of patients with relapsed and resistant non-Hodgkin's lymphoma using total body irradiation, etoposide, and cyclophosphamide and autologous bone marrow transplantation. *J Clin Oncol.* 1992;10:936-941.
179. Rodriguez J, Caballero MD, Gutierrez A, et al. Autologous stem-cell transplantation in diffuse large B-cell non-Hodgkin's lymphoma not achieving complete response after induction chemotherapy: the GEL/TAMO experience. *Ann Oncol.* 2004;15:1504-1509.
180. Demirer T, Ayli M, Fen T, et al. High-dose thiotepa, melphalan and carboplatin (TMCb) followed by autologous peripheral blood stem cell transplantation in patients with lymphoma -- a retrospective evaluation. *Bone Marrow Transplant.* 2004;34:781-786.
181. Gutierrez-Delgado F, Holmberg L, Hooper H, et al. Autologous stem cell transplantation for Hodgkin's disease: busulfan, melphalan and thiotepa compared to a radiation-based regimen. *Bone Marrow Transplant.* 2003;32:279-285.
182. Gutierrez-Delgado F, Maloney DG, Press OW, et al. Autologous stem cell transplantation for non-Hodgkin's lymphoma: comparison of radiation-based and chemotherapy-only preparative regimens. *Bone Marrow Transplant.* 2001;28:455-461.
183. Oliner H, Schwartz R, Rubio F, Dameshek W. Interstitial pulmonary fibrosis following busulfan therapy. *Am J Med.* 1961;31:134-139.
184. Andersson BS, Thall PF, Madden T, et al. Busulfan systemic exposure relative to regimen-related toxicity and acute graft-versus-host disease: defining a therapeutic window for i.v. BuCy2 in chronic myelogenous leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2002;8:477-485.
185. Tran HT, Madden T, Petropoulos D, et al. Individualizing high-dose oral busulfan: prospective dose adjustment in a pediatric population undergoing allogeneic stem cell transplantation for advanced hematologic malignancies. *Bone Marrow Transplant.* 2000;26:463-470.
186. Diaz MA, Vicent MG, Madero L. High-dose busulfan/melphalan as conditioning for autologous PBPC transplantation in pediatric patients with solid tumors. *Bone Marrow Transplant.* 1999;24:1157-1159.
187. Schallier D, Impens N, Warson F, Van Belle S, De Wasch G. Additive pulmonary toxicity with melphalan and busulfan therapy. *Chest.* 1983;84:492-493.

188. Akasheh MS, Freytes CO, Vesole DH. Melphalan-associated pulmonary toxicity following high-dose therapy with autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2000;26:1107-1109.
189. Wadhwa PD, Fu P, Koc ON, et al. High-dose carmustine, etoposide, and cisplatin for autologous stem cell transplantation with or without involved-field radiation for relapsed/refractory lymphoma: an effective regimen with low morbidity and mortality. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2005;11:13-22.
190. Dawson LA, Saito NG, Ratanatharathorn V, et al. Phase I study of involved-field radiotherapy preceding autologous stem cell transplantation for patients with high-risk lymphoma or Hodgkin's disease. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2004;59:208-218.
191. Emmanouilides C, Asuncion DJ, Wolf C, Scott S, Territo M. Localized radiation increases morbidity and mortality after TBI-containing autologous stem cell transplantation in patients with lymphoma. *Bone Marrow Transplant.* 2003;32:863-867.
192. Friedberg JW, Neuberg D, Monson E, Jallow H, Nadler LM, Freedman AS. The impact of external beam radiation therapy prior to autologous bone marrow transplantation in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2001;7:446-453.
193. Sakaida E, Nakaseko C, Harima A, et al. Late-onset noninfectious pulmonary complications after allogeneic stem cell transplantation are significantly associated with chronic graft-versus-host disease and with the graft-versus-leukemia effect. *Blood.* 2003;102:4236-4242.
194. Patriarca F, Skert C, Bonifazi F, et al. Effect on survival of the development of late-onset non-infectious pulmonary complications after stem cell transplantation. *Haematologica.* 2006;91:1268-1272.
195. Patriarca F, Skert C, Sperotto A, et al. Incidence, outcome, and risk factors of late-onset noninfectious pulmonary complications after unrelated donor stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2004;33:751-758.
196. Schneider RA, Schultze J, Jensen JM, Hebbinghaus D, Galalae RM. Long-term outcome after static intensity-modulated total body radiotherapy using compensators stratified by pediatric and adult cohorts. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2008;70:194-202.
197. Schneider RA, Schultze J, Jensen JM, Hebbinghaus D, Galalae R, Kimmig BN. 20 Years of Experience in Static Intensity-Modulated Total-Body Irradiation and Lung Toxicity : Results in 257 Consecutive Patients. *Strahlenther Onkol.* 2007;183:545-551.
198. Szekely J, Fabry L, Forgacs G, et al. Total body irradiation before bone marrow transplantation. Technique and acute toxicity. *Strahlenther Onkol.* 1999;175:606-610.

199. Kader HA, Khanna S, Hutchinson RM, Aukett RJ, Archer J. Pulmonary complications of bone marrow transplantation: the impact of variations in total body irradiation parameters. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 1994;6:96-101.
200. Quast U. The dose to lung in TBI. *Strahlenther Onkol*. 1991;167:135-151.
201. Helman DL, Jr., Byrd JC, Ales NC, Shorr AF. Fludarabine-related pulmonary toxicity: a distinct clinical entity in chronic lymphoproliferative syndromes. *Chest*. 2002;122:785-790.
202. Malik SW, Myers JL, DeRemee RA, Specks U. Lung toxicity associated with cyclophosphamide use. Two distinct patterns. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996;154:1851-1856.
203. Rossi SE, Erasmus JJ, McAdams HP, Sporn TA, Goodman PC. Pulmonary drug toxicity: radiologic and pathologic manifestations. *Radiographics*. 2000;20:1245-1259.
204. Kanda Y, Takahashi T, Imai Y, et al. Bronchiolitis obliterans organizing pneumonia after syngeneic bone marrow transplantation for acute lymphoblastic leukemia. *Bone Marrow Transplant*. 1997;19:1251-1253.
205. Trobaugh-Lotrario AD, Greffe B, Deterding R, Deutsch G, Quinones R. Pulmonary veno-occlusive disease after autologous bone marrow transplant in a child with stage IV neuroblastoma: case report and literature review. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2003;25:405-409.
206. Hackman RC, Madtes DK, Petersen FB, Clark JG. Pulmonary venoocclusive disease following bone marrow transplantation. *Transplantation*. 1989;47:989-992.
207. Parimon T, Madtes DK, Au DH, Clark JG, Chien JW. Pretransplant lung function, respiratory failure, and mortality after stem cell transplantation. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;172:384-390.
208. van Besien K. Toxicity of high dose BCNU: how much is too much? *Leuk Lymphoma*. 2006;47:1447-1448.
209. Puig N, de la Rubia J, Remigia MJ, et al. Morbidity and transplant-related mortality of CBV and BEAM preparative regimens for patients with lymphoid malignancies undergoing autologous stem-cell transplantation. *Leuk Lymphoma*. 2006;47:1488-1494.
210. Twohig KJ, Matthay RA. Pulmonary effects of cytotoxic agents other than bleomycin. *Clin Chest Med*. 1990;11:31-54.
211. Brockstein BE, Smiley C, Al-Sadir J, Williams SF. Cardiac and pulmonary toxicity in patients undergoing high-dose chemotherapy for lymphoma and breast cancer: prognostic factors. *Bone Marrow Transplant*. 2000;25:885-894.
212. Frisk P, Arvidson J, Bratteby LE, Hedenstrom H, Lonnerholm G. Pulmonary function after autologous bone marrow transplantation in children: a long-term prospective study. *Bone Marrow Transplant*. 2004;33:645-650.



213. Mah K, Van Dyk J. Quantitative measurement of changes in human lung density following irradiation. *Radiother Oncol.* 1988;11:169-179.
214. el-Khatib E, Connors S, Logus W. The influence of lung and bone dosimetry on the choice of radiation energy for total body irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1992;23:1051-1057.
215. Vriesendorp HM, Herman MG, Saral R. Future analyses of total body irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1991;20:635-637.
216. Appelbaum FR. The influence of total dose, fractionation, dose rate, and distribution of total body irradiation on bone marrow transplantation. *Semin Oncol.* 1993;20:3-10; quiz 11.
217. Belkacemi Y, Pene F, Touboul E, et al. Total-body irradiation before bone marrow transplantation for acute leukemia in first or second complete remission. Results and prognostic factors in 326 consecutive patients. *Strahlenther Onkol.* 1998;174:92-104.
218. Keane TJ, Van Dyk J, Rider WD. Idiopathic interstitial pneumonia following bone marrow transplantation: the relationship with total body irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1981;7:1365-1370.
219. Fryer CJ, Fitzpatrick PJ, Rider WD, Poon P. Radiation pneumonitis: experience following a large single dose of radiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1978;4:931-936.
220. Duchting W, Ulmer W, Ginsberg T, Saile C. Radiogenic responses of normal tissue induced by fractionated irradiation--a simulation study. I. Acute effects. *Strahlenther Onkol.* 1995;171:460-467.
221. Kaanders JH, Ang KK. Early Reactions as Dose-Limiting Factors in Radiotherapy. *Semin Radiat Oncol.* 1994;4:55-67.
222. Michalowski A. Effects of radiation on normal tissues: hypothetical mechanisms and limitations of in situ assays of clonogenicity. *Radiat Environ Biophys.* 1981;19:157-172.
223. Corvo R, Lamparelli T, Bruno B, et al. Low-dose fractionated total body irradiation (TBI) adversely affects prognosis of patients with leukemia receiving an HLA-matched allogeneic bone marrow transplant from an unrelated donor (UD-BMT). *Bone Marrow Transplant.* 2002;30:717-723.
224. Kim TH, McGlave PB, Ramsay N, et al. Comparison of two total body irradiation regimens in allogeneic bone marrow transplantation for acute non-lymphoblastic leukemia in first remission. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1990;19:889-897.
225. Resbeut M, Cowen D, Blaise D, et al. Fractionated or single-dose total body irradiation in 171 acute myeloblastic leukemias in first complete remission: is there a best choice? SFGM. Societe Francaise de Greffe de Moelle. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1995;31:509-517.
226. McDonald GB, Sharma P, Matthews DE, Shulman HM, Thomas ED. Venocclusive disease of the liver after bone marrow transplantation: di-

- agnosis, incidence, and predisposing factors. *Hepatology*. 1984;4:116-122.
227. Ho V, Momtaz P, Didas C, Wadleigh M, Richardson P. Post-transplant hepatic veno-occlusive disease: pathogenesis, diagnosis and treatment. *Rev Clin Exp Hematol*. 2004;8:E3.
228. McDonald GB, Hinds MS, Fisher LD, et al. Veno-occlusive disease of the liver and multiorgan failure after bone marrow transplantation: a cohort study of 355 patients. *Ann Intern Med*. 1993;118:255-267.
229. Rozman C, Carreras E, Qian C, et al. Risk factors for hepatic veno-occlusive disease following HLA-identical sibling bone marrow transplants for leukemia. *Bone Marrow Transplant*. 1996;17:75-80.
230. Cesaro S, Pillon M, Talenti E, et al. A prospective survey on incidence, risk factors and therapy of hepatic veno-occlusive disease in children after hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica*. 2005;90:1396-1404.
231. Dulley FL, Kanfer EJ, Appelbaum FR, et al. Venocclusive disease of the liver after chemoradiotherapy and autologous bone marrow transplantation. *Transplantation*. 1987;43:870-873.
232. Litzow MR, Repoussis PD, Schroeder G, et al. Veno-occlusive disease of the liver after blood and marrow transplantation: analysis of pre- and post-transplant risk factors associated with severity and results of therapy with tissue plasminogen activator. *Leuk Lymphoma*. 2002;43:2099-2107.
233. Simon M, Hahn T, Ford LA, et al. Retrospective multivariate analysis of hepatic veno-occlusive disease after blood or marrow transplantation: possible beneficial use of low molecular weight heparin. *Bone Marrow Transplant*. 2001;27:627-633.
234. O'Donnell MR, Long GD, Parker PM, et al. Busulfan/cyclophosphamide as conditioning regimen for allogeneic bone marrow transplantation for myelodysplasia. *J Clin Oncol*. 1995;13:2973-2979.
235. Atkinson K, Biggs J, Noble G, Ashby M, Concannon A, Dodds A. Preparative regimens for marrow transplantation containing busulphan are associated with haemorrhagic cystitis and hepatic veno-occlusive disease but a short duration of leucopenia and little oro-pharyngeal mucositis. *Bone Marrow Transplant*. 1987;2:385-394.
236. Morgan M, Dodds A, Atkinson K, Szer J, Downs K, Biggs J. The toxicity of busulphan and cyclophosphamide as the preparative regimen for bone marrow transplantation. *Br J Haematol*. 1991;77:529-534.
237. Lee JL, Gooley T, Bensinger W, Schiffman K, McDonald GB. Veno-occlusive disease of the liver after busulfan, melphalan, and thiotepa conditioning therapy: incidence, risk factors, and outcome. *Biol Blood Marrow Transplant*. 1999;5:306-315.

238. Hanel M, Kroger N, Sonnenberg S, et al. Busulfan, cyclophosphamide, and etoposide as high-dose conditioning regimen in patients with malignant lymphoma. *Ann Hematol.* 2002;81:96-102.
239. Bouligand J, Deroussent A, Simonnard N, et al. Induction of glutathione synthesis explains pharmacodynamics of high-dose busulfan in mice and highlights putative mechanisms of drug interaction. *Drug Metab Dispos.* 2007;35:306-314.
240. Phillips GL, Fay JW, Herzig GP, et al. Intensive 1,3-bis(2-chloroethyl)-1-nitrosourea (BCNU), NSC #4366650 and cryopreserved autologous marrow transplantation for refractory cancer. A phase I-II study. *Cancer.* 1983;52:1792-1802.
241. Takvorian T, Parker LM, Hochberg FH, Canellos GP. Autologous bone-marrow transplantation: host effects of high-dose BCNU. *J Clin Oncol.* 1983;1:610-620.
242. Lonnerholm G, Carlson K, Bratteby LE, et al. Renal function after autologous bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1991;8:129-134.
243. Cohen EP, Lawton CA, Moulder JE. Bone marrow transplant nephropathy: radiation nephritis revisited. *Nephron.* 1995;70:217-222.
244. Frisk P, Bratteby LE, Carlson K, Lonnerholm G. Renal function after autologous bone marrow transplantation in children: a long-term prospective study. *Bone Marrow Transplant.* 2002;29:129-136.
245. Hingorani S, Guthrie KA, Schoch G, Weiss NS, McDonald GB. Chronic kidney disease in long-term survivors of hematopoietic cell transplant. *Bone Marrow Transplant.* 2007;39:223-229.
246. Borg M, Hughes T, Horvath N, Rice M, Thomas AC. Renal toxicity after total body irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2002;54:1165-1173.
247. Kal HB, van Kempen-Harteveld ML. Renal dysfunction after total body irradiation: dose-effect relationship. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2006;65:1228-1232. Epub 2006 May 1226.
248. Emami B, Lyman J, Brown A, et al. Tolerance of normal tissue to therapeutic irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1991;21:109-122.
249. Miralbell R, Sancho G, Bieri S, et al. Renal insufficiency in patients with hematologic malignancies undergoing total body irradiation and bone marrow transplantation: a prospective assessment. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2004;58:809-816.
250. Lawton CA, Cohen EP, Murray KJ, et al. Long-term results of selective renal shielding in patients undergoing total body irradiation in preparation for bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1997;20:1069-1074.
251. Tarbell NJ, Guinan EC, Chin L, Mauch P, Weinstein HJ. Renal insufficiency after total body irradiation for pediatric bone marrow transplantation. *Radiother Oncol.* 1990;18:139-142.

252. Carlson K, Smedmyr B, Hagberg H, Oberg G, Simonsson B. Haemolytic uraemic syndrome and renal dysfunction following BEAC (BCNU, etoposide, ara-C, cyclophosphamide) +/- TBI and autologous BMT for malignant lymphomas. *Bone Marrow Transplant.* 1993;11:205-208.
253. El-Seisi S, Gupta R, Clase CM, Forrest DL, Milandinovic M, Couban S. Renal pathology at autopsy in patients who died after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2003;9:683-688.
254. Darrington DL, Vose JM, Anderson JR, et al. Incidence and characterization of secondary myelodysplastic syndrome and acute myelogenous leukemia following high-dose chemoradiotherapy and autologous stem-cell transplantation for lymphoid malignancies. *J Clin Oncol.* 1994;12:2527-2534.
255. Andre M, Henry-Amar M, Blaise D, et al. Treatment-related deaths and second cancer risk after autologous stem-cell transplantation for Hodgkin's disease. *Blood.* 1998;92:1933-1940.
256. Milligan DW, Ruiz De Elvira MC, Kolb HJ, et al. Secondary leukaemia and myelodysplasia after autografting for lymphoma: results from the EBMT. EBMT Lymphoma and Late Effects Working Parties. European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Br J Haematol.* 1999;106:1020-1026.
257. Forrest DL, Hogge DE, Nevill TJ, et al. High-dose therapy and autologous hematopoietic stem-cell transplantation does not increase the risk of second neoplasms for patients with Hodgkin's lymphoma: a comparison of conventional therapy alone versus conventional therapy followed by autologous hematopoietic stem-cell transplantation. *J Clin Oncol.* 2005;23:7994-8002.
258. Brown JR, Yeckes H, Friedberg JW, et al. Increasing incidence of late second malignancies after conditioning with cyclophosphamide and total-body irradiation and autologous bone marrow transplantation for non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol.* 2005;23:2208-2214.
259. Park S, Brice P, Noguerra ME, et al. Myelodysplasias and leukemias after autologous stem cell transplantation for lymphoid malignancies. *Bone Marrow Transplant.* 2000;26:321-326.
260. Sevilla J, Rodriguez A, Hernandez-Maraver D, et al. Secondary acute myeloid leukemia and myelodysplasia after autologous peripheral blood progenitor cell transplantation. *Ann Hematol.* 2002;81:11-15.
261. Wheeler C, Khurshid A, Ibrahim J, et al. Incidence of post transplant myelodysplasia/acute leukemia in non-Hodgkin's lymphoma patients compared with Hodgkin's disease patients undergoing autologous transplantation following cyclophosphamide, carmustine, and etoposide (CBV). *Leuk Lymphoma.* 2001;40:499-509.

262. Metayer C, Curtis RE, Vose J, et al. Myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia after autotransplantation for lymphoma: a multicenter case-control study. *Blood*. 2003;101:2015-2023.
263. Krishnan A, Bhatia S, Slovak ML, et al. Predictors of therapy-related leukemia and myelodysplasia following autologous transplantation for lymphoma: an assessment of risk factors. *Blood*. 2000;95:1588-1593.
264. Hosing C, Munsell M, Yazji S, et al. Risk of therapy-related myelodysplastic syndrome/acute leukemia following high-dose therapy and autologous bone marrow transplantation for non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol*. 2002;13:450-459.
265. Stone RM, Neuberg D, Soiffer R, et al. Myelodysplastic syndrome as a late complication following autologous bone marrow transplantation for non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol*. 1994;12:2535-2542.
266. Micallef IN, Lillington DM, Apostolidis J, et al. Therapy-related myelodysplasia and secondary acute myelogenous leukemia after high-dose therapy with autologous hematopoietic progenitor-cell support for lymphoid malignancies. *J Clin Oncol*. 2000;18:947-955.
267. Beauchamp-Nicoud A, Feneux D, Bayle C, et al. Therapy-related myelodysplasia and/or acute myeloid leukaemia after autologous haematopoietic progenitor cell transplantation in a prospective single centre cohort of 221 patients. *Br J Haematol*. 2003;122:109-117.
268. Martinez-Climent JA, Comes AM, Vizcarra E, et al. Chromosomal abnormalities in women with breast cancer after autologous stem cell transplantation are infrequent and may not predict development of therapy-related leukemia or myelodysplastic syndrome. *Bone Marrow Transplant*. 2000;25:1203-1208.
269. Kroger N, Zander AR, Martinelli G, et al. Low incidence of secondary myelodysplasia and acute myeloid leukemia after high-dose chemotherapy as adjuvant therapy for breast cancer patients: a study by the Solid Tumors Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Ann Oncol*. 2003;14:554-558.
270. Bloomfield CD, Archer KJ, Mrozek K, et al. 11q23 balanced chromosome aberrations in treatment-related myelodysplastic syndromes and acute leukemia: report from an international workshop. *Genes Chromosomes Cancer*. 2002;33:362-378.
271. Cooper MH, Hartman GG, Starzl TE, Fung JJ. The induction of pseudo-graft-versus-host disease following syngeneic bone marrow transplantation using FK 506. *Transplant Proc*. 1991;23:3234-3235.
272. Sanders JE, Pritchard S, Mahoney P, et al. Growth and development following marrow transplantation for leukemia. *Blood*. 1986;68:1129-1135.
273. Kami M, Tanaka Y, Chiba S, et al. Thyroid function after bone marrow transplantation: possible association between immune-mediated thyrotoxicosis and hypothyroidism. *Transplantation*. 2001;71:406-411.

274. Ishiguro H, Yasuda Y, Tomita Y, et al. Long-term follow-up of thyroid function in patients who received bone marrow transplantation during childhood and adolescence. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:5981-5986.
275. Berger C, Le-Gallo B, Donadieu J, et al. Late thyroid toxicity in 153 long-term survivors of allogeneic bone marrow transplantation for acute lymphoblastic leukaemia. *Bone Marrow Transplant.* 2005;35:991-995.
276. Matsumoto M, Ishiguro H, Tomita Y, et al. Changes in thyroid function after bone marrow transplant in young patients. *Pediatr Int.* 2004;46:291-295.
277. Fife BL, Huster GA, Cornetta KG, Kennedy VN, Akard LP, Broun ER. Longitudinal study of adaptation to the stress of bone marrow transplantation. *J Clin Oncol.* 2000;18:1539-1549.
278. Schulz-Kindermann F, Hennings U, Ramm G, Zander AR, Hasenbring M. The role of biomedical and psychosocial factors for the prediction of pain and distress in patients undergoing high-dose therapy and BMT/PBSCT. *Bone Marrow Transplant.* 2002;29:341-351.
279. Firat S, Pleister A, Byhardt RW, Gore E. Age is independent of comorbidity influencing patient selection for combined modality therapy for treatment of stage III nonsmall cell lung cancer (NSCLC). *Am J Clin Oncol.* 2006;29:252-257.
280. Albertsen PC, Fryback DG, Storer BE, Kolon TF, Fine J. The impact of co-morbidity on life expectancy among men with localized prostate cancer. *J Urol.* 1996;156:127-132.
281. Coebergh JW, Janssen-Heijnen ML, Razenberg PP. Prevalence of comorbidity in newly diagnosed patients with cancer: a population-based study. *Crit Rev Oncol Hematol.* 1998;27:97-100.
282. Janssen-Heijnen ML, Schipper RM, Razenberg PP, Crommelin MA, Coebergh JW. Prevalence of co-morbidity in lung cancer patients and its relationship with treatment: a population-based study. *Lung Cancer.* 1998;21:105-113.
283. Lemmens VE, Janssen-Heijnen ML, Verheij CD, Houterman S, Repelaer van Driel OJ, Coebergh JW. Co-morbidity leads to altered treatment and worse survival of elderly patients with colorectal cancer. *Br J Surg.* 2005;92:615-623.
284. Maas HA, Kruitwagen RF, Lemmens VE, Goey SH, Janssen-Heijnen ML. The influence of age and co-morbidity on treatment and prognosis of ovarian cancer: a population-based study. *Gynecol Oncol.* 2005;97:104-109.
285. van Spronsen DJ, Janssen-Heijnen ML, Lemmens VE, Peters WG, Coebergh JW. Independent prognostic effect of co-morbidity in lymphoma patients: results of the population-based Eindhoven Cancer Registry. *Eur J Cancer.* 2005;41:1051-1057.

286. Sorrow ML, Maris MB, Storer B, et al. Comparing morbidity and mortality of HLA-matched unrelated donor hematopoietic cell transplantation after nonmyeloablative and myeloablative conditioning: influence of pretransplantation comorbidities. *Blood*. 2004;104:961-968.